

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

AVA GEVAERD

INCORPORAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM BIOCHAR E POSTERIOR
CONSTRUÇÃO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO PARA A
DETERMINAÇÃO DE PARAQUAT

CURITIBA

2015

AVA GEVAERD

INCORPORAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM BIOCHAR E POSTERIOR
CONSTRUÇÃO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO PARA A
DETERMINAÇÃO DE PARAQUAT

Dissertação apresentada como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre em
Química Analítica, Programa de Pós-
Graduação em Química, Setor de Ciências
Exatas, Universidade Federal do Paraná

Orientador: Prof. Dr. Luiz Humberto
Marcolino Junior

CURITIBA

2015

G396i

Gevaerd, Ava

Incorporação de antimônio em biochar e posterior construção de um sensor eletroquímico para a determinação de paraquat/ Ava Gevaerd. – Curitiba, 2015.

123 f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-graduação em Química, 2015.

Orientador: Luiz Humberto Marcolino Junior .
Bibliografia: p. 110-123.

1. Eletrodos. 2. Detectores eletroquímicos. 3. Antimônio. 4. Biomassa. 5. Paraquat. I. Universidade Federal do Paraná. II. Marcolino Junior, Luiz Humberto. III. Título.

CDD: 668.654

TERMO DE APROVAÇÃO

**INCORPORAÇÃO DE ANTIMÔNIO EM BIOCHAR E POSTERIOR CONSTRUÇÃO DE
UM SENSOR ELETROQUÍMICO PARA A DETERMINAÇÃO DE PARAQUAT**

por


AVA GEVAERD

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de

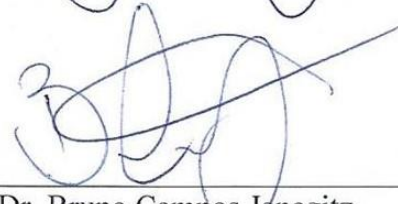
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química,

pela Comissão Examinadora composta por:


Orientador:



Prof. Dr. Luiz Humberto Marcolino Jr.
Dep. de Química – UFPR



Prof. Dr. Bruno Campos Janegitz
Dep. de Química – UFSC



Profª Drª Noemi Nagata
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 27 de fevereiro de 2015.

***Ao Chris, meu amigo, meu parceiro, meu amor
Aos meus pais e meus irmãos,
Dedico.***

AGRADECIMENTOS

O desenvolvimento deste trabalho não seria possível sem a participação de várias pessoas, as quais eu gostaria muito de agradecer:

Gostaria de agradecer ao meu professor e orientador, Luiz Humberto, que mesmo nos meus “altos e baixos” durante o percurso teve paciência e persistência em me orientar e acreditou no meu potencial, por toda a ajuda, dedicação e conhecimento compartilhados desde 2009.

Ao professor Márcio Bergamini por toda orientação, dúvidas sanadas e incentivo.

Aos professores Bruno José Gonçalves da Silva e Bruno Campos Janegitz pelas contribuições no exame de qualificação. A professora Noemi Nagata e novamente ao professor Bruno Campos Janegitz, membros desta banca.

À CAPES e CNPq pela bolsa concedida.

À Universidade Federal do Paraná, por toda a estrutura.

Ao pessoal do LabSense pelo ótimo ambiente de trabalho, descontração, risadas, churrascos, confraternizações e afins.

Aos meus amigos além do LabSense Fran, Lis, Mauricio e Michelle obrigada por todos os Américas, por todas as danças, composições e adivinhações de músicas, por todas as risadas, por toda a felicidade. As minhas amigas que conheci através do LabSense Amábile e Vivi, obrigada por todo o carinho mesmo de longe. A minha amiga Samantha, por toda a amizade desde o primeiro ano da graduação e por todas as balas recheadas com crocante e cobertas por chocolate vindas de São Bento do Sul. “Aos anjos que encontrei pelo caminho, dei um nome bonito: amigos.”. (G. Lacombe).

Ao Chris, minha alma... Obrigada por trazer à tona o melhor de mim com a tua pureza, compreensão e caráter e principalmente por ter esse coração tão gigante que não cabe em ti e que me faz sentir ser a pessoa mais especial que pode existir. Obrigada por estar sempre ao meu lado, por aguentar minhas manias, birras, medos, implicâncias, etc. etc. etc. “Não há ninguém como você e só você me faz sorrir... Já não consigo nem lembrar do mundo antes de você!”
Te amo!

Aos meus pais, Julio e Maria. Não poderiam ser outros se não vocês. Não poderiam ser outras broncas se não as de vocês. Não poderiam ser outros abraços se não os de vocês. Não poderia ser outro amor se não o de vocês. Tenho certeza que Deus sabe o que faz, poderia ser filha de outros, mas Ele me escolheu para vocês e vocês para mim. Obrigada por construírem meu caráter, ser exemplo de dignidade, garra e amor. Amo vocês!

Aos meus irmãos Edu, Loise e Anna, por todo o amor e cuidado com a bebezinha da casa, no caso eu, não posso dizer outra coisa que não: eu amo vocês! Obrigada por serem especiais e terem me dado a oportunidade de ser mais completa por sentir o amor de tia. Obrigada pela vida da Agnis, da Madu e da Stella. E gostaria de agradecer a Adi e ao Leo que completam os meus irmãos e a nossa família.

À minha dinda Zilma (*in memoriam*). Obrigada por ser e estar tão presente, de corpo e alma, na minha vida no (breve) tempo em que Deus nos permitiu. Obrigada por sempre me acompanhar, guiar e proteger, e mesmo de longe preencher o vazio da tua ausência nos nossos encontros em pensamentos e lembranças.

À Deus.

Por último, mas não menos importante, minha fofinha Gaya, por todo o carinho e amor traduzidos em “ronrons”!

Obrigada.

RESUMO

Neste trabalho é descrita a construção e aplicação de eletrodos de pasta de carbono modificados com biochar e antimônio (EPCMSb) para a determinação voltamétrica de paraquat através de um procedimento simples, rápido e sensível. As medidas foram realizadas por voltametria de redissolução adsortiva por onda quadrada, sendo o procedimento proposto composto por 5 etapas iniciadas pela incorporação do antimônio a superfície do biochar em circuito aberto, redução eletroquímica do antimônio para a estabilização do sinal de fundo, pré-concentração do paraquat, em circuito aberto, na superfície do EPCMSb obtido na etapa anterior, obtenção dos voltamogramas por redissolução catódica e renovação da superfície do eletrodo para a próxima medida. Parâmetros relacionados ao dispositivo, como quantidade de biochar utilizado na composição da pasta de carbono e tempo de incorporação de Sb ao eletrodo, em relação ao eletrólito suporte, parâmetros instrumentais e comparação entre voltametria foram examinados em detalhes. Sob condições otimizadas, foi obtida uma curva analítica para a determinação de paraquat empregando o EPCMSb, o qual apresentou uma faixa linear de resposta entre $2,0 \times 10^{-7}$ e $2,9 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com limite de detecção e quantificação calculados de $3,4 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e $1,1 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, respectivamente, após a pré-concentração do analito durante dois minutos. O estudo de repetibilidade apresentou RSD = 2,0% para 10 medidas consecutivas com a mesma superfície e o estudo de reprodutibilidade apresentou RSD = 2,7% para medidas com 10 superfícies diferentes. Estudos de adição e recuperação em amostra de água e de frutas cítricas fortificadas com o analito foram realizados, obtendo-se recuperações na faixa de 95 a 102% para água de torneira, e de 85 a 120% para as amostras de suco, em geral, indicando assim que não há efeitos de matriz significativos. Efeitos de possíveis interferentes encontrados nas amostras de suco foram realizados, entre eles citrato de sódio, ácido ascórbico e sacarose, sendo que apenas a sacarose em uma concentração 10 vezes maior que a concentração do analito apresentou interferência do sinal obtido pelo dispositivo proposto.

Palavras-chave: Eletrodo Modificado, Antimônio, Biochar, Paraquat, Sensor Eletroquímico

ABSTRACT

This work describes the construction and application of carbon paste electrodes modified with biochar and antimony (EPCMSb) for the voltammetric determination of paraquat through a simple, rapid and sensitive procedure. The measurements were carried out by adsorptive stripping voltammetry by square wave, and the proposed procedure consists of 5 steps initiated by the incorporation of antimony surface of biochar at open circuit, electrochemical reduction of antimony to the stabilization of background signal, preconcentration paraquat open circuit on the surface of EPCMSb obtained in the previous step, obtaining a cathodic stripping voltammetry and the electrode surface renewal for the next measurement. Related parameters to device, such as amount of biochar used in the composition of the carbon paste and Sb incorporation time the electrode in relation to the supporting electrolyte, instrumental parameters and comparing voltammetry were examined in detail. Under optimized conditions, an analytical curve was obtained for the determination of paraquat employing EPCMSb, which showed a linear response range between 2.0×10^{-7} and 2.9×10^{-6} mol L⁻¹, with limit of detection and quantification calculated between 3.4×10^{-8} mol L⁻¹ and 1.1×10^{-7} mol L⁻¹, respectively, after pre-concentration of the analyte for two minutes. The repeatability study presented RSD = 2.0% for 10 consecutive measurements of the same electrode surface and the reproducibility study showed RSD = 2.7% for measurements with 10 different surfaces. Studies of the addition and recovery in water and citrus fruits spiked samples with the analyte were performed, yielding recoveries ranging from 95 to 102% of tap water and 85 to 120% juice samples, generally, thereby indicating that there is no significant matrix effects. Possible interfering effects found in juice samples were conducted, including sodium citrate, ascorbic acid and saccharose, with only saccharose at a concentration 10 times higher than the concentration of the analyte signal obtained from the interference presented by the proposed device.

Keywords: Modified Electrode, Antimony, Biochar, Paraquat, Electrochemical Sensor

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura molecular do Paraquat.....	20
Figura 2. Esquema das reações envolvendo o Paraquat em organismos vivos	21
Figura 3. A) Variação de potencial com relação ao tempo em voltametria de varredura linear e B) curva corrente vs. potencial resultante (voltamograma). 25	
Figura 4. Variação da corrente faradáica e corrente capacitiva com o tempo, nas técnicas pulsadas.....	26
Figura 5. A) Representação esquemática da voltametria de onda quadrada, onde: 1) potencial na forma de onda; 2) escada de potencial; 3) forma de aplicação do potencial na SWV; 4) corrente total; B) Parâmetros empregados na técnica. Adaptado de De Souza [22-23].....	27
Figura 6. Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada representativos de processos redox A) de um sistema reversível e B) de um sistema irreversível. Adaptada de De Souza [23].	27
Figura 7. Analogia entre o processamento de sinal em seres vivos e em máquinas. Adaptado de Gründler [28].....	29
Figura 8. Princípio de funcionamento de um eletrodo quimicamente modificado, onde a modificação da superfície favorece apenas o processo redox de interesse.....	31
Figura 9. Principais estratégias para o desenvolvimento de EQMs.....	32
Figura 10. Voltamogramas de redissolução anódica de Cd(II) e Pb(II) sobre eletrodos de filme de antimônio (linha grossa), filme de bismuto (linha fina) e filme de mercúrio (linha pontilhada)[57].	37
Figura 11. Etapas do processo de pirólise da Biomassa e obtenção dos produtos. Adaptado de Xu [44].	41
Figura 12. Modificação da estrutura do biochar em função do aumento da temperatura. Adaptado de Joseph e Lehmann [43].	42
Figura 13. Mecanismos de interação do biochar com compostos orgânicos. Adaptado de Ahmad e colaboradores [81].	43
Figura 14. Mecanismos de interação do biochar com compostos orgânicos. Adaptado de Ahmad e colaboradores [81]	46

Figura 15. (A) Componentes utilizados para a construção dos eletrodos de pasta de carbono, sendo (1) suporte do eletrodo, (2) contato elétrico e (3) pasta de carbono. (B) Eletrodo pronto para o uso.	50
Figura 16. Etapas do procedimento voltamétrico.	51
Figura 17. Procedimento realizado para as Titulações Potenciométricas.	59
Figura 18. Perfil Voltamétrico obtido para eletrodo de pasta de carbono (EPC) e eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar (EPCM), na presença de $8,76 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Sb^{3+} . Eletrólito Suporte: $\text{HCl } 0,01 \text{ mol L}^{-1}$; Velocidade de Varredura: 100 mV s^{-1}	61
Figura 19. Espectros de infravermelho obtidos para o biochar e grafite.....	62
Figura 20. Espectro de FTIR obtido para amostra de biochar.	64
Figura 21. Curvas Potenciométricas obtidas pelo Método de Boehm aplicado a amostra de biochar.....	66
Figura 22. Curvas titulométricas e primeira derivada para: A) titulação com NaOH , B) titulação com NaHCO_3 e C) titulação com Na_2CO_3	67
Figura 23. Voltamogramas obtidos para Varredura Catódica de 0,0 a -1,5 V. A) sem limite de corrente e B) limitando a corrente de em $4,11 \mu\text{A}$	70
Figura 24. Voltamogramas de varredura linear para a comparação dos intervalos de potencial obtidos para eletrodo de filme de mercúrio (a), filme de antimônio (b), filme de bismuto (c) formados ex situ e eletrodo de carbono vítreo (d). Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} em $\text{HCl } 0,01 \text{ mol L}^{-1}$	70
Figura 25. A) Voltamograma de Onda Quadrada obtido para EPCMSb na presença de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat. B) Voltamograma de Onda Quadrada resultante, componente direta e componente reversa. $f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 4 \text{ mV}$	72
Figura 26. Voltamogramas de Onda Quadrada obtidos para os diferentes eletrodos: eletrodo de pasta de carbono modificado com carvão ativado (EPCA); eletrodo de pasta de carbono (EPC); eletrodo de pasta de carbono modificado com antimônio (EPCsb) eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar (EPCM); eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar e antimônio (EPCMSb). $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $t_{ADS} = 120 \text{ s}$; $f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 4 \text{ mV}$	74
Figura 27. Gráfico de comparação entre as variações de correntes obtidas pelos diferentes eletrodos, a partir dos voltamogramas da FIGURA 26.	74

Figura 28. Imagens de MEV representativas da superfície do A) EPCM e B,C e D) EPCMSb	77
Figura 29. Espectros de EDS referentes ao EPCMSb e EPCM.	79
Figura 30. Voltamogramas de Onda Quadrada obtidos para a escolha do Eletrólito da Solução de A) Pré concentração e B) Leitura. $C_{PQ}=1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $t_{ADS} = 300 \text{ s}$; $f = 25 \text{ Hz}$; $\Delta_{EP} = 50 \text{ mV}$; $\Delta_{ES} = 5 \text{ mV}$	81
Figura 31. Estudo da Variação do pH da solução de leitura e da solução de pré concentração. $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $t_{ADS} = 300 \text{ s}$; $f = 25 \text{ Hz}$; $\Delta_{EP} = 50 \text{ mV}$; $\Delta_{ES} = 5 \text{ mV}$	82
Figura 32. Respostas em função da corrente obtidas para PQ no estudo da quantidade de modificador da pasta de carbono utilizando-se EPCMSb contendo 10, 15, 20, 25, 30 e 40% de biochar, a partir de voltamogramas de onda quadrada. $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $t_{ADS} = 300 \text{ s}$; $f = 25 \text{ Hz}$; $\Delta_{EP} = 50 \text{ mV}$; $\Delta_{ES} = 5 \text{ mV}$	84
Figura 33. Respostas em função de corrente para PQ no estudo do tempo de exposição ao Sb(III) utilizando-se EPCMSb com diferentes tempos de exposição a uma solução contendo $8,76 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Sb^{3+} , obtidas a partir de voltamogramas de onda quadrada. $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $t_{ADS} = 300 \text{ s}$; $f = 25 \text{ Hz}$; $\Delta_{EP} = 50 \text{ mV}$; $\Delta_{ES} = 5 \text{ mV}$	86
Figura 34. Voltamograma linear obtido para EPCMSb. Velocidade de varredura: 10 mV s^{-1} ; eletrólito suporte: tampão acetato pH=5.	88
Figura 35. Respostas em função de corrente para PQ para o estudo do tempo de exposição ao paraquat utilizando-se EPCMSb, obtidas a partir de voltamogramas de onda quadrada. $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $f = 25 \text{ Hz}$; $\Delta_{EP} = 50 \text{ mV}$; $\Delta_{ES} = 5 \text{ mV}$	89
Figura 36. A) Voltamogramas de onda quadrada representativos obtidos para o estudo da frequência e B) Respostas em função de corrente de PQ utilizando-se EPCMSb em função da variação da frequência. $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $\Delta_{EP} = 50 \text{ mV}$; $\Delta_{ES} = 5 \text{ mV}$	91
Figura 37. A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para o estudo da amplitude de pulso e B) Respostas em função de corrente (●) e largura de pico à meia altura (◆) de PQ utilizando-se EPCMSb em função da variação da amplitude de pulso. $t_{ADS} = 120 \text{ s}$; $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta_{ES} = 5 \text{ mV}$	92

Figura 38. A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para o estudo do incremento de potencial e B) Respostas em função de corrente (♦) e largura de pico à meia altura (●) de PQ utilizando-se EPCMSb em função da variação do incremento de potencial. $t_{ADS} = 120s$; $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$	93
Figura 39. Gráfico de barras em função da porcentagem das correntes obtidas no estudo de repetibilidade. $t_{ADS} = 120 \text{ s}$; $C_{PQ}=1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $f = 100\text{Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 4 \text{ mV}$; $n=10$	94
Figura 40. Gráfico de barras em função da porcentagem das correntes obtidas no estudo de reprodutibilidade. $t_{ADS} = 120 \text{ s}$; $C_{PQ}=1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $f = 100\text{Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 4 \text{ mV}$; $n=10$	95
Figura 41. Curva de calibração obtida para PQ, na faixa de $1,0 \times 10^{-7}$ a $4,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, empregando-se EPCMSb. $f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 4 \text{ mV}$; $t_{ADS} = 120 \text{ s}$	96
Figura 42. A) Voltamogramas de Onda Quadrada representativos da região linear de resposta. B) Curva analítica obtida a partir de voltamogramas de onda quadrada como os demonstrados em A. $f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 4 \text{ mV}$; $t_{ADS} = 120 \text{ s}$; $n=3$	97
Figura 43. Curvas de Calibração obtidas para SWV ($f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 4 \text{ mV}$) e DPV ($\Delta E_P = 75 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 7 \text{ mV}$; $t = 25 \text{ ms}$) na faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-8}$ a $3,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat. $t_{ADS} = 120 \text{ s}$	98
Figura 44. Amostras de sucos empregadas nos ensaios de adição e recuperação.	102
Figura 45. Correlação entre as concentrações de PQ adicionados e as concentrações de PQ recuperadas em relação as respostas de todas as amostras.....	103
Figura 46. Utilização de Regressão Linear para a comparação entre dois métodos. A) Concordância Ideal entre os dois métodos; B-F) Resultados afetados por diferentes erros sistemáticos. Adaptado de Miller [117].	105

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Classificação quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental...	18
TABELA 2. Principais categorias de agrotóxicos em função da praga a ser combatida e do grupo químico pertencente.	18
TABELA 3. Condições de operação e produtos obtidos pelos processos de pirólise e gaseificação.	41
TABELA 4. Níveis de Concentração utilizados nos experimentos de Adição e Recuperação.	57
TABELA 5. Níveis de Concentração utilizados nos estudos de espécies interferentes.	58
TABELA 6. Quantificação dos grupos superficiais ácidos do Biochar pelo Método de Boehm.	68
TABELA 7. Parâmetros Otimizados	96
TABELA 8. Desempenho Analítico obtido com o EPCMSb para a determinação de PQ.	97
TABELA 9. Comparação entre o desempenho analítico obtido com o dispositivo proposto e diferentes dispositivos descritos na literatura para a determinação de Paraquat.	99
TABELA 10. Resultados obtidos para o Estudo de Interferentes.	100
TABELA 11. Estudo de Recuperação de PQ em amostra de água.	101
TABELA 12. Estudo de Recuperação de PQ em amostras de suco.	102

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ΔE_P – Amplitude de Potencial

ΔE_S – Incremento de Potencial

Φ_{int} – Diâmetro Interno

AuNP/DNA/GE – Eletrodo de Ouro modificado com nanopartículas de ouro modificadas com DNA

BiFE – Eletrodo de Filme de Bismuto (do inglês *Bismuth Film Electrode*)

DHP – Dihexadecil Hidrogênio Fosfato

DL50 – Dose Letal Mediana

DPAdsSV - Voltametria Adsorptiva de Redissolução Anódica por Pulso Diferencial (do inglês *Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltammetry*)

DPV – Voltametria de Pulso Diferencial (do inglês *Differential Pulse Voltammetry*)

EDS – Espectroscopia de Energia Dispersiva (do inglês *Energy Dispersive Spectroscopy*)

EPA - Agência de Proteção Ambiental Americana (do inglês *Environmental Protection Agency*)

EPC – Eletrodo de Pasta de Carbono

EPCCA – Eletrodo de Pasta de Carbono Modificada com Carvão Ativado

EPCM – Eletrodo de Pasta de Carbono Modificada com Biochar

EPCMSb – Eletrodo de Pasta de Carbono Modificada com Biochar e Antimônio

EPCSb – Eletrodo de Pasta de Carbono Modificado com Antimônio

EQM – Eletrodo Quimicamente Modificado

FTIR – Espectroscopia No Infravermelho Com Transformada De Fourier

GCE – Eletrodo de Carbono Vítreo (do inglês *Glassy Carbon Electrode*)

HDME - Eletrodo de Gota Pendente de Mercúrio (do inglês *Hanging Drop Mercury Electrode*)

I_{PC} – Corrente de Pico Catódico

LMR – Limites Máximos de Resíduos

LSV – Voltametria de Varredura Linear (do inglês *Linear Sweep Voltammetry*)

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MWNTC-DPH/GC - Eletrodo de Carbono Vítreo modificado com nanotubos de carbono de parede múltipla funcionalizados imobilizados em um filme de DHP.

PGE/CoPc - Eletrodo de Grafite Pirolítico modificado com Ftalocianina de Cobalto

PQ – Paraquat

PVC - Policloreto de Vinila (do inglês *Polyvinyl chloride*)

SWV – Voltametria de Onda Quadrada (do inglês *Square Wave Voltammetry*)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 AGROTÓXICOS	17
1.1.1 Paraquat	20
1.2 TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS	23
1.2.1 Voltametrias	24
1.3 SENSORES ELETROQUÍMICOS	28
1.3.1 Eletrodos Quimicamente Modificados	31
1.3.2 Eletrodos de Bismuto	34
1.3.3 Eletrodos de Antimônio	36
1.4 BIOCHAR	40
2 OBJETIVOS	48
2.1 OBJETIVOS GERAIS	48
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	48
3 MATERIAIS E MÉTODOS	49
3.1 REAGENTES	49
3.2 PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO E PASTA DE CARBONO MODIFICADA COM BIOCHAR (EPCM)	49
3.3 INCORPORAÇÃO DE ANTIMÔNIO AOS ELETRODOS CONSTRUÍDOS	50
3.4 MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS	50
3.4.1 Caracterizações Voltamétricas Preliminares	51
3.4.1.1 Efeito da presença do biochar na modificação da pasta de carbono e comportamento voltamétrico do Sb(III) sobre EPC e EPCM	51
3.4.1.2 Estudo do efeito da presença de Sb(III) na superfície do EPCM – Efeito do sobrepotencial para a formação de hidrogênio	52
3.4.1.3 Estimativa da quantidade de Antimônio presente na superfície do EPCMSb	52
3.4.1.4 Comportamento voltamétrico do Paraquat sobre o EPCMSb	52
3.4.1.5 Avaliação da potencialidade do EPCMSb como sensor para PQ e comparação entre diferentes eletrodos	53
3.5 DESENVOLVIMENTO DA METODOLOGIA ANALÍTICA	53
3.5.1 Estudo da influência da variação do eletrólito suporte	54

3.5.2	Estudo da influência da porcentagem de modificador na composição da pasta de carbono.....	54
3.5.3	Estudo da influência do tempo de incorporação de Antimônio	54
3.5.4	Estudo da influência do tempo de pré concentração em solução de Paraquat.....	55
3.5.5	Estudo da influência dos parâmetros da técnica de Voltametria de Onda Quadrada (SWV)	55
3.5.6	Estudo da Repetibilidade	55
3.5.7	Estudo da Reprodutibilidade	55
3.6	APLICAÇÃO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO.....	56
3.6.1	Curva Analítica e Parâmetros de Mérito	56
3.6.2	Estudos de Adição e Recuperação.....	56
3.6.2.1	Amostra de Água da Torneira	57
3.6.2.2	Amostras de Suco de Laranja e Limão.....	57
3.6.3	Estudo da influência de espécies interferentes presentes nas amostras de suco.....	57
3.7	CARACTERIZAÇÃO DO BIOCHAR	58
3.7.1	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	58
3.7.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)	58
3.7.3	Titulações de Boehm	59
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.1	AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO DO ANTIMÔNIO SOBRE EPC E EPCMSB E EFEITO DA PRESENÇA DO BIOCHAR NA MODIFICAÇÃO DA PASTA DE CARBONO	60
4.1.1	Caracterização do Biochar por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier	63
4.1.2	Caracterização do Biochar por Titulação Potenciométrica ou Método de Boehm.....	65
4.2	AVALIAÇÃO DO EFEITO SOBRE O INTERVALO DE POTENCIAL CAUSADO PELA PRESENÇA DO ANTIMÔNIO NA SUPERFÍCIE DO EPCM	69
4.3	COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO DO PARAQUAT UTILIZANDO O EPCMSB.	71
4.4	COMPARAÇÃO ENTRE DIFERENTES ELETRODOS	73

4.4.1	Análises Morfológicas por MEV	76
4.4.2	Análise Química Elementar	78
4.5	ESTUDOS DE OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS ENVOLVIDOS NA METODOLOGIA PROPOSTA.....	79
4.5.1	Estudo da Influência do Eletrólito Suporte	80
4.5.2	Estudo da Influência da variação do pH do Eletrólito Suporte	81
4.5.3	Estudo da Quantidade de Modificador na Pasta.....	84
4.5.4	Estudo do tempo de exposição do eletrodo à solução de Sb(III).....	85
4.5.5	Estimativa da quantidade de Antimônio na superfície do EPCSb.....	87
4.5.6	Estudo do tempo de exposição ao PQ.....	88
4.6	OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS – PARÂMETROS DA TÉCNICA	90
4.7	ESTUDO DA REPETIBILIDADE E REPRODUTIBILIDADE	93
4.8	CURVA ANALÍTICA	95
4.9	DETERMINAÇÃO DE PARAQUAT EM AMOSTRAS REAIS	99
4.9.1	Efeito das espécies interferentes.....	100
4.9.2	Adição e Recuperação em Amostra de Água de torneira	101
4.9.3	Adição e Recuperação em Amostras de Suco	101
5	CONCLUSÕES	107
6	PERSPECTIVAS FUTURAS	109
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	110

1 INTRODUÇÃO

1.1 AGROTÓXICOS

A partir da década de 50, quando se iniciou a chamada Revolução Verde, a indústria do agrotóxico teve o seu crescente desenvolvimento. Com o fim da Segunda Guerra Mundial, as substâncias antes utilizadas para fins bélicos tiveram sua utilização direcionada para a agricultura, na tentativa de facilitar o cultivo agrícola, eliminando organismos que poderiam representar obstáculos à produção. [1]

No Brasil, os reflexos da Revolução Verde foram evidenciados em meados dos anos de 1960 até 1970, com a introdução de máquinas agrícolas e a utilização indiscriminada de substâncias químicas no processo de produção. Essas novas tecnologias maximizaram a produção agrícola, bem como os efeitos negativos que tais substâncias implicavam sobre o meio ambiente. [1-2]

A partir da promulgação da lei federal nº 7.802, de 11 de julho de 1989, chamada de Lei do Agrotóxico, todas as classes de substâncias químicas utilizadas tanto em áreas rurais, como urbanas, passaram a ser chamados agrotóxicos. Tal lei é o referencial legal mais importante em relação à essa classe de produtos e está em vigência até os dias atuais. [1;3]

Além da Lei do Agrotóxico, a portaria normativa nº 84 de 15 de outubro de 1996 classifica cada substância em relação ao Potencial de Periculosidade Ambiental, chamado PPA. Tal classificação fica a encargo do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, baseando-se em parâmetros como bioacumulação, persistência, transporte, toxicidade a diversos organismos, potencial mutagênico, teratogênico, carcinogênico, e é apresentada na TABELA 1. [4]

TABELA 1. Classificação quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental

Classe	Toxicidade	DL50	Faixa
Classe I	Altamente Perigoso	≤ 5 mg / kg	Vermelha
Classe II	Muito Perigoso	Entre 5 e 50 mg/kg	Amarela
Classe III	Perigoso	Entre 50 e 500 mg/kg	Azul
Classe IV	Pouco Perigoso	Entre 500 e 5000 mg/kg	Verde

Sendo assim, os agrotóxicos são classificados como “Substâncias ou mistura de substâncias de natureza química quando destinadas a prevenir, destruir ou repelir, direta ou indiretamente, qualquer forma de agente patogênico ou de vida animal ou vegetal, que seja nociva às plantas e animais úteis, seus produtos e subprodutos e ao homem.”. Essas substâncias têm seu uso destinado também para as etapas de armazenamento e transporte dos alimentos. [1;3;5]

Essas classes de produtos para o controle de pragas abrangem uma ampla variedade de substâncias químicas com diferentes grupos funcionais, modos de ação, biotransformação e eliminação. Dentre estas classes de substâncias, podem ser citados organoclorados, carbamatos, organofosforados, piretróides, bipiridílios, triazinas e clorofenóis. A TABELA 2 traz a relação de algumas dessas classes e para qual finalidade são utilizadas. [1;6]

TABELA 2. Principais categorias de agrotóxicos em função da praga a ser combatida e do grupo químico pertencente.

Classificação quanto à natureza da praga	Classificação quanto ao grupo químico	Exemplo
Inseticidas (combate aos insetos)	Inorgânicos	Arsenato de Cálcio
	Organofosforados	Metil-paration,
	Organoclorados	DDT
	Carbamatos	Carbofuran
Fungicidas (combate aos fungos)	Inorgânicos	Enxofre
	Organomercuriais	Acetato de Fenilmercúrio
	Ditiocarbamatos	Tiram, Metiram
	Antibióticos	Estreptomicina
Herbicidas (combate às plantas invasoras)	Inorgânicos	Cloreto de Sódio
	Fenóxiacéticos	2,4-Dicloroacético
	Bipiridílios	Paraquat, Diquat
	Carbamatos	Profam

Os herbicidas são uma classe de agrotóxicos amplamente utilizados para controle das plantas daninhas, porém seu efeito se estende aos insetos e outros invertebrados, diminuindo a fauna local e favorecendo a proliferação da infestação por outros insetos praga, além de ser nocivo também à saúde humana. [5-6]

A importância do uso destas substâncias na agricultura está no fato de que tais ervas (daninhas) competem em nutrientes, água, luz e espaço com as culturas de interesse e, portanto, necessitam ser extintas. A efetividade de ação dos herbicidas depende de vários fatores, como natureza e acidez do solo, umidade, temperatura, entre outros. [7-8]

De acordo com o modo de ação, os herbicidas podem ser classificados como [8]:

A. Residuais: permanecem no solo tempo suficiente para matar as ervas daninhas. Normalmente não são tóxicos para a plantação, aplicando-se depois do cultivo, antes do nascimento da cultura.

B. De contato: matam quaisquer plantas com as quais ocorra contato. Sua ação é tóxica, porém de curta duração.

C. Sistêmicos: penetram na planta, distribuindo-se por todo o organismo.

Em relação a seletividade, podem ser classificados como [8]:

A. Não-seletivo: destroem toda a vegetação sobre a qual é aplicado, podendo ser seletivos quando aplicados em quantidades menores.

B. Seletivos: nas condições adequadas, como uniformidade na aplicação e aplicações das doses corretas, destroem apenas as ervas daninhas e não a cultura.

E levando em consideração o tempo de aplicação, são classificados como [8]:

A. Pré-plantação: aplicados após a preparação do solo e antes da plantação do cultivo.

B. Pré-emergente: aplicados antes da germinação das sementes das ervas daninhas.

C. Pós-emergentes: aplicados após o crescimento das ervas daninhas e do cultivo.

1.1.1 Paraquat

O Paraquat (dicloreto de 1,1-dimetil-4,4-bipiridilo), PQ, é um composto quaternário de amônio, caracterizado por dois anéis de metil-piridínicos ligados covalentemente, conforme ilustrado na FIGURA 1. [4-5]

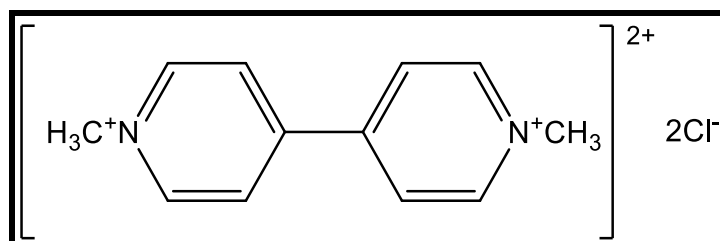


Figura 1. Estrutura molecular do Paraquat

Compõe a classe dos bipiridilos, a qual tem como outro representante majoritário o diquat. É classificado como herbicida de contato e não-seletivo, com aplicações pós-emergentes em cultivos como café, laranja, limão, maçã, algodão, cana-de-açúcar, entre outros. De acordo com a classificação quanto ao PPA é classificado como classe I, altamente perigoso ao meio ambiente. [4;8]

Alguns estudos afirmam que a intoxicação por paraquat, seja pela exposição prolongada do indivíduo ao agrotóxico ou pela ingestão da substância tóxica, pode estar intimamente relacionada com o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, principalmente a doença de Parkinson. Estudos mostram que tais doenças podem ter suas causas de origem genotípica, mutações genéticas ou também fenotípicas, fatores ambientais por exemplo. [7]

O mecanismo preliminar da toxicidade do PQ, que é um dos causadores da doença de Parkinson, é baseado no *stress* oxidativo induzido pelo PQ nas células, porém não é bem elucidado ainda. Em linhas gerais, há um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (primeiramente o superóxido ($O_2^{\cdot-}$)) que acarreta a formação das demais espécies (peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e a radical hidroxila (OH^{\cdot})). Estas espécies são altamente instáveis e reagem com ácidos graxos, principal constituinte de membranas celulares, proteínas e DNA, causando lesões, quase sempre, irreversíveis. A formação dessas espécies é causada pela facilidade que o paraquat tem em receber elétrons de enzimas do tipo flavoproteínas, sendo reduzido ao radical $PQ^{\cdot+}$, que reage com o oxigênio presente nas células, sendo oxidado a forma catiônica inicial do paraquat,

reduzindo o oxigênio a superóxido. Como a presença de oxigênio nas células é praticamente constante, essas reações compõem um ciclo infinito. A partir do superóxido, as outras formas reativas e radicalares são formadas, causando o *stress* oxidativo, degenerando as paredes celulares de DNA, proteínas e lipídeos. A FIGURA 2 esquematiza essas reações. [7;9]

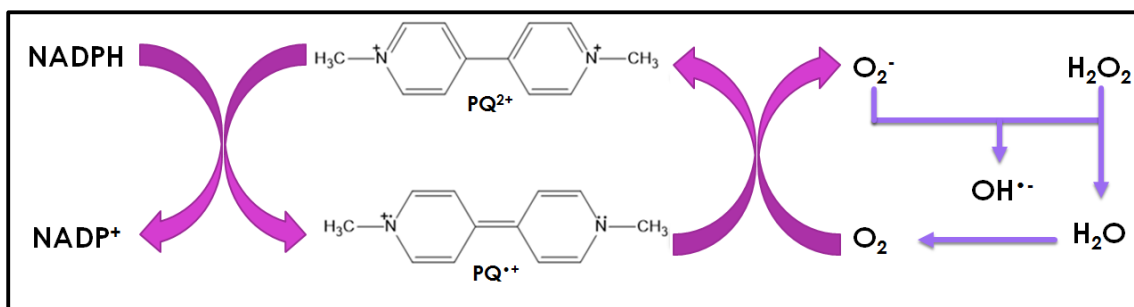


Figura 2. Esquema das reações envolvendo o Paraquat em organismos vivos

A intoxicação por tal substância pode acontecer por diferentes vias. A elevada polaridade atribuída aos compostos de amônio quaternário, tal como o paraquat, faz com que a contaminação do meio aquático por esse composto seja facilitada. Segundo a Agência de Proteção Ambiental Norte Americana (EPA, *Environmental Protection Agency*), o limite máximo tolerável de agrotóxicos bupiridilos, em água potável, é de 100 µg L⁻¹ ou 3,8 x 10⁻⁷ mol L⁻¹. No Brasil, de acordo com o Guia de Potabilidade para Substâncias Químicas, o limite máximo permitido, em água potável, para o PQ é de 20 µg L⁻¹ ou 7,7 x 10⁻⁸ mol L⁻¹. A Portaria MS nº 518, de 25 de março de 2004, que é a legislação vigente sobre água potável, traz a indicação de valores máximos permitidos (VMP) para 23 substâncias, porém não inclui o paraquat nessa listagem. [9-11]

Outra via de contaminação pode ser através da ingestão de alimentos cujos cultivos foram tratados com o herbicida. Quando o agrotóxico é aplicado sobre a cultura, há formação de uma camada da substância sobre o fruto, porém o que fica absorvido nas plantas, em quantidades inferiores aquela aplicada, é que deve ser considerado e classificado como resíduo.

Tais resíduos são regulamentados pelo Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002, o qual estabelece assim os Limites Máximos de Resíduos, LMR, classificados como “Quantidade máxima de resíduo de agrotóxico ou afim oficialmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada numa fase específica, desde sua produção até o consumo, expressa em partes (em

peso) do agrotóxico, afim ou seus resíduos por milhão de partes de alimento (em peso) (ppm ou mg/kg)". [12]

Os LMR estabelecidos para o PQ nas mais diversas culturas variam de 0,05 a 0,5 mg Kg⁻¹ ou $1,9 \times 10^{-7}$ a $1,9 \times 10^{-6}$ mol Kg⁻¹. Por exemplo, para a cultura de frutas cítricas, laranja e limão, o LMR é de $1,9 \times 10^{-7}$ mol Kg⁻¹ ($1,9 \times 10^{-7}$ mol de paraquat para cada quilo de fruta analisada). [13]

A fim de minimizar os efeitos negativos que a presença dessa espécie possa causar no meio ambiente, diversos métodos analíticos têm sido propostos para a monitoramento de paraquat nas mais diversas matrizes.

Os métodos cromatográficos têm sido bastante utilizados para tal fim, como por exemplo determinação de PQ em amostras de plasma e urina humana utilizando-se microextração em fase sólida e cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas [14], cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa para determinação de PQ em amostras de sangue [15], cromatografia líquida de par iônico com ionização por eletro *spray* acoplada ao espectrômetro de massas para a determinação de paraquat e diquat em óleo de oliva [16], e também determinação do herbicida em amostras de água por cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas [17].

Técnicas eletroquímica também têm sido empregadas para a determinação do herbicida. Garcia e colaboradores [18] descrevem a utilização de um eletrodo de carbono vítreo modificado por um filme de nanotubos de carbono e DHP para a determinação de paraquat em amostras de águas naturais por voltametria de onda quadrada. Os autores obtiveram uma faixa de resposta linear entre $5,0 \times 10^{-8}$ e $1,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, alcançando um limite de detecção (LD) de $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Os valores obtidos estão em concordância, em um nível de 95% de confiança, com os resultados obtidos em análises de cromatografia líquida de alta eficiência.

Figueiredo-Filho e colaboradores [19] descrevem a utilização de um eletrodo de filme de bismuto para a determinação de paraquat por voltametria de pulso diferencial, o qual apresentou uma resposta linear no intervalo de $6,6 \times 10^{-7}$ a $4,8 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, alcançando $9,3 \times 10^{-8}$ e $3,1 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para os limites de detecção e quantificação, respectivamente. Após a otimização dos parâmetros, o sensor foi aplicado para a determinação do herbicida em amostras de água, sendo as respostas obtidas comparadas com o método comparativo, que se

utiliza de um eletrodo gotejante de mercúrio. Os resultados obtidos pelo método foram satisfatórios em um nível de confiança de 95%.

De Souza e colaboradores [20] utilizaram ultramicroeletros de ouro em conjunto com voltametria de onda quadrada para determinação de paraquat em sucos de laranja e limão. Os autores relatam que os resultados obtidos mostraram a possibilidade de análises diretas em matrizes complexas sem a necessidade de etapas de separação ou preparação da amostra.

As técnicas eletroquímicas apresentam algumas vantagens que tornam o seu emprego em diversas análises bastante atrativos, como baixo custo de sua instrumentação, quando comparada a outras técnicas normalmente utilizadas nessas determinações, além de apresentar também a possibilidade de análise, detecção e quantificação multielementar, os baixos limites de quantificação e detecção, e a elevada sensibilidade. Além disso, a possibilidade de miniaturização de todo o sistema de monitoramento, desde o dispositivo até ao equipamento, quando se requer análises *in situ*.

1.2 TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS

As técnicas eletroquímicas envolvem o estabelecimento de relações entre a concentração do analito e algumas propriedades elétricas, tais como, corrente faradaica, potencial elétrico, condutividade e carga. Elas são utilizadas no estudo da influência das variações de potenciais sobre as correntes que fluem por uma célula eletroquímica e também no estudo da influência dos potenciais elétricos. [21]

Com base na propriedade elétrica utilizada para a quantificação do analito, as técnicas eletroquímicas são classificadas como [22]:

A. Condutometria: Medida de condutividade ou condutância elétrica de soluções iônicas através de uma perturbação alternada.

B. Coulometria: medida da quantidade de carga (Q) consumida para a conversão (oxidação ou redução) de uma determinada espécie.

C. Potenciometria: medida de potencial gerado pela alteração da concentração de uma espécie em uma célula eletroquímica.

D. Voltametria/Amperometria: medida da corrente gerada pela reação de oxidação ou redução de uma espécie química na superfície de um eletrodo.

Independente de como a resposta será obtida, as técnicas eletroquímicas têm características em comum, como a simplicidade nas análises, a possibilidade de realizar medidas sem a necessidade de etapas prévias de separação ou de purificação da amostra e possibilidade de análises em soluções coloridas e com partículas dispersas.

1.2.1 Voltametrias

Dentre as técnicas eletroanalíticas, as voltametrias são as mais utilizadas. Ela surgiu a partir da polarografia, desenvolvida por Jaroslav Heyrovsky em 1922. Uma célula voltamétrica é formada por um conjunto de três eletrodos: eletrodo de referência, eletrodo auxiliar (ou contra eletrodo) e um eletrodo de trabalho, ao qual uma diferença de potencial elétrico é aplicada, para que as reações de oxidação ou redução de interesse possam ocorrer em sua superfície. Tais reações geram como resultado uma corrente elétrica que é diretamente proporcional com a quantidade do analito presente na solução analisada. [21-22]

Os gráficos obtidos são função da corrente pelo potencial aplicado, e são chamados voltamogramas, sendo a corrente amostrada por esse gráfico a somatória das correntes faradáica (corrente gerada pela reação de interesse na superfície do eletrodo de trabalho) e capacitiva (corrente gerada devido à formação da dupla camada elétrica, sendo esta contribuição oriunda da capacitância gerada pela polarização da superfície do eletrodo e por espécies carregadas com carga oposta em solução, indesejada em uma medida voltamétrica). [22]

As voltametrias podem ser classificadas quanto ao modo de perturbação do potencial aplicado, e para cada uma dessas voltametrias a maneira como a corrente é amostrada e obtida também varia. A forma mais simples de voltametria é a de varredura linear (LSV), onde o potencial do eletrodo varia linearmente com o tempo, conforme demonstrado na FIGURA 3A, e a corrente

resultante é medida a todo instante resultando em um voltamograma demonstrado na FIGURA 3B. [19]

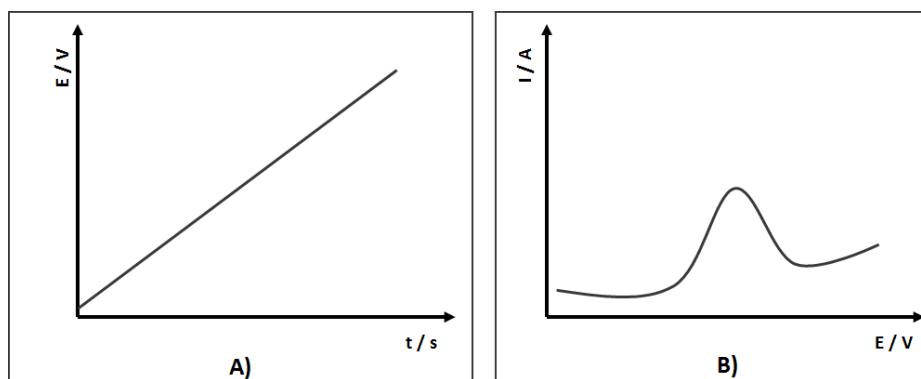


Figura 3. A) Variação de potencial com relação ao tempo em voltametria de varredura linear e B) curva corrente vs. potencial resultante (voltamograma).

Por possuir uma elevada contribuição da corrente capacitiva, devido ao modo de amostragem de corrente, a LSV tem sua utilização limitada quando as concentrações dos analitos se encontram em concentrações muito baixas. Para níveis tão baixos dos analitos, utilizam-se, em grande maioria, as técnicas pulsadas: voltametria de pulso diferencial (DPV) e voltametria de onda quadrada (SWV).

Nas técnicas pulsadas, a perturbação do potencial não é uma função linear em relação ao tempo, como ocorre na LSV, sendo que a variação de potencial é realizada pela aplicação de uma sequência de pulsos, onde a corrente é amostrada ao final do tempo de cada pulso. Dessa maneira, há quase total discriminação da corrente capacitiva e maior contribuição da corrente faradáica. Tal fenômeno ocorre devido ao comportamento distinto apresentado pelas duas correntes durante o tempo de vida do pulso, conforme demonstrado na FIGURA 4. [23-24]

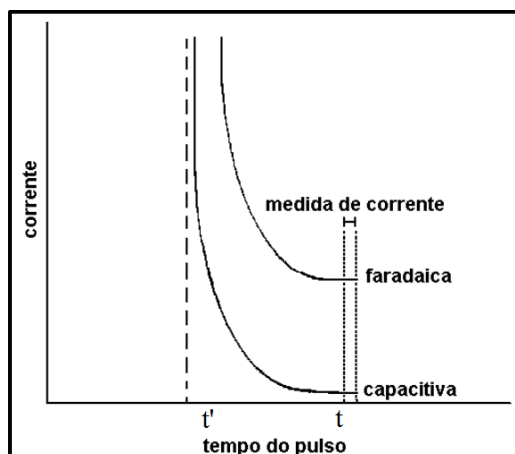


Figura 4. Variação da corrente faradáica e corrente capacitiva com o tempo, nas técnicas pulsadas.

É possível visualizar pela figura acima que a corrente capacitiva é proporcional a $e^{-t/RC}$ (onde t é o tempo, R a resistência da solução e C a capacitância da dupla camada), e portanto tem a diminuição muito mais rápida e pronunciada do que a diminuição apresentada pela corrente faradáica, que tem seu decaimento proporcional a $t^{-1/2}$. Dessa maneira, com a maior contribuição da corrente relacionada aos processos faradáicos de interesse há uma melhora nos limites das técnicas pulsadas, bem como da detectabilidade. [23-24]

Na voltametria de onda quadrada o potencial é aplicado na forma ondas quadradas simétricas e duplas (FIGURA 5A(1)) que são sobrepostas à uma rampa de potencial na forma de escada (FIGURA 5A(2)), que abrangem o sentido da reação direta e reversa. A forma de perturbação final, proposta por Osteryoung em 1977, é mostrada na FIGURA 5A(3). O voltamograma obtido para a SWV é dependente da amplitude das ondas de potencial aplicados, ΔE_P , do incremento de potencial, ΔE_s , que será adicionado às ondas (degraus da escada) e da frequência, f . Na figura 5B, uma curva de potencial vs. tempo está representada, e nela estão relacionados cada um desses parâmetros; O período de cada onda quadrada, τ , é o parâmetro que influencia a frequência da aplicação das ondas e por fim a velocidade de cada medida voltamétrica, sendo a frequência igual a $1/\tau$. [21;23]

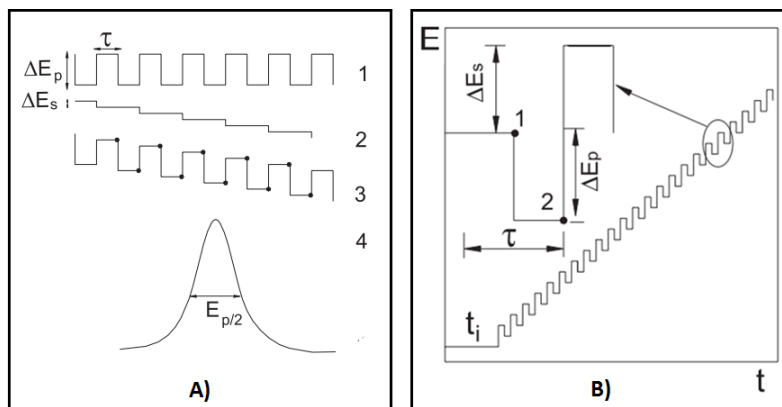


Figura 5. A) Representação esquemática da voltametria de onda quadrada, onde: 1) potencial na forma de onda; 2) escada de potencial; 3) forma de aplicação do potencial na SWV; 4) corrente total; B) Parâmetros empregados na técnica. Adaptado de De Souza [22-23].

A corrente resultante é obtida da diferença entre as correntes medidas no final do pulso direto (1) e reverso (2), sendo o voltamograma resultante o somatório das componentes da reação direta e da reação reversa. O voltamograma obtido apresenta picos para processos faradaícos, cuja altura é proporcional à concentração da espécie eletroativa, como representa a FIGURA 6.

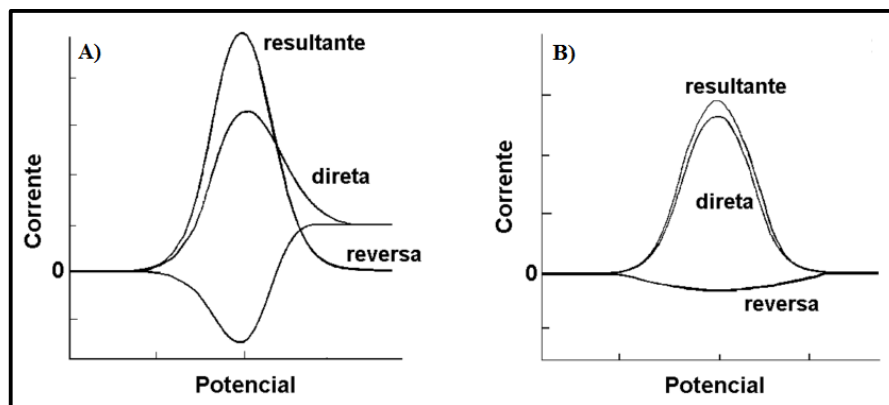


Figura 6. Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada representativos de processos redox A) de um sistema reversível e B) de um sistema irreversível. Adaptada de De Souza [23].

Para diminuir ainda mais os limites de detecção, melhorando a detectabilidade do método, utilizam-se em conjunto com as técnicas de pulso, métodos de redissolução. Os métodos de redissolução atribuem ao experimento voltamétrico uma etapa de pré-concentração do analito e que podem concentrar o analito por fatores de 100 a 1000 vezes. Estes métodos são classificados de acordo com a natureza do fenômeno que ocorre na etapa de pré-concentração [21;25]:

A. Redissolução anódica: onde a pré-concentração do analito é realizada através da aplicação de um potencial negativo (redução) e a análise (redissolução) é feita através da aplicação de um potencial no sentido positivo (oxidação).

B. Redissolução catódica: a pré-concentração é realizada através da aplicação de um potencial positivo (oxidação) e a análise (redissolução) é feita através da aplicação de um potencial no sentido negativo (redução).

C. Redissolução adsorptiva: a pré-concentração do analito é realizada com ou sem aplicação de potencial, ocorrendo apenas pela interação espontânea do analito com a superfície do eletrodo, principalmente quando o eletrodo de trabalho é baseado em um material com propriedades que ajudam nessa etapa, por exemplo, com a superfície funcionalizada capaz de quelar as espécies de interesse, ou com capacidade de troca iônica. A análise (redissolução) pode ser feita tanto por uma varredura de potencial no sentido negativo (redução) quanto positivo (oxidação). Tal estratégia é empregada no desenvolvimento desse trabalho, uma vez que o eletrodo de trabalho é construído utilizando-se o biochar, um material rico em carbono e com quantidades elevadas de funcionalizações superficiais, as quais favorecem esse mecanismo espontâneo de interação.

1.3 SENSORES ELETROQUÍMICOS

Sensores químicos, em geral, são dispositivos que geram respostas específicas através de reações ou interações químicas, as quais são proporcionais com a concentração da espécie química de interesse. Tais dispositivos atuam como um canal de comunicação entre o meio no qual estão inseridos e o equipamento ao qual estão conectados, gerando uma resposta relacionada ao sistema que está sendo analisado. Idealmente, os sensores químicos devem funcionar de maneira contínua e reversível e realizar a medição diretamente na matriz da amostra, sem preparação prévia. [26]

A composição do dispositivo é que torna possível a obtenção de respostas geradas pelo sistema, sendo composto por transdutores que recebem

informações do meio através dos receptores e as transformam em um sinal analiticamente útil processado pelo equipamento. Essa comunicação pode ser mais ou menos efetiva, dependendo das características seletivas que compõem o receptor – essa interface poderá reconhecer apenas a resposta de interesse, ou seja aquela referente ao analito. A FIGURA 7 traz uma analogia entre os sensores naturais e os sensores modernos. Os sensores naturais, como aqueles encontrados em organismos vivos, geralmente respondem com sinais de caráter eletroquímico obtidos a partir de uma série de etapas, as quais também estão presentes na geração dos sinais dos sensores modernos. Tal característica torna possível a relação das semelhanças existente entre os organismos vivos e as máquinas, mais facilmente visualizada quando se faz uma analogia entre as etapas e componentes que fazem parte do funcionamento de sensores naturais e modernos. [26-28]

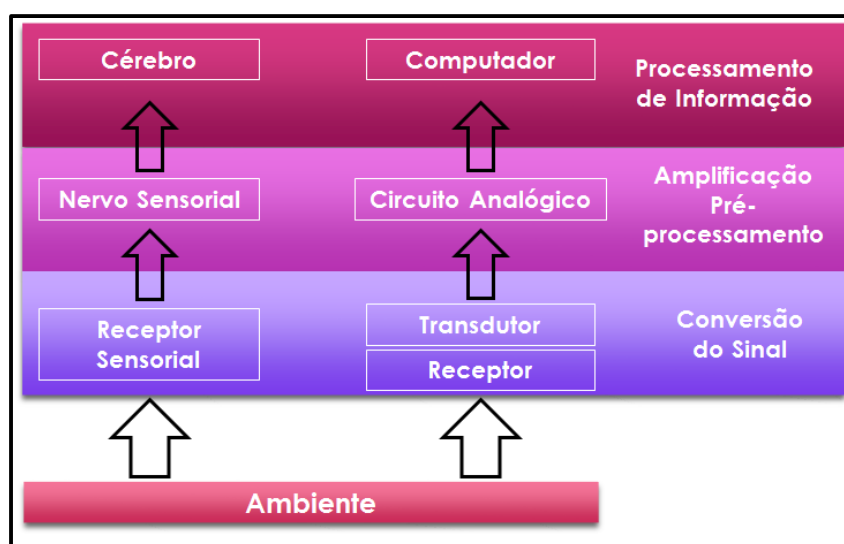


Figura 7. Analogia entre o processamento de sinal em seres vivos e em máquinas. Adaptado de Gründler [28].

Dentre a diversificada gama de sensores químicos conhecidos e classificados de acordo com o tipo de transdução de sinal empregado – óticos, calorimétricos, de massa, magnéticos, etc. – a classe dos sensores eletroquímicos é uma das mais versáteis e difundidas na literatura. [26-28]

Quando se referem aos sensores eletroquímicos, a resposta obtida referente ao analito é medida em função de uma propriedade elétrica – potencial, em sensores potenciométricos, condutividade/condutância, em sensores condutométricos, e corrente elétrica, em sensores amperométricos/voltamétricos; das três vertentes anteriormente citadas, os

sensores voltamétricos (amperométricos) são os mais utilizados. Nos dispositivos voltamétricos, a corrente elétrica gerada pela presença do analito é referente a uma reação redox, que irá ocorrer na superfície do eletrodo de trabalho, sensível à superfície do receptor, promovida pela perturbação de potencial do sistema, sendo o eletrodo de trabalho muitas vezes classificado como sensor eletroquímico. [27]

Assim, o desempenho de um procedimento voltamétrico é fortemente influenciado pelo material que compõe o eletrodo de trabalho, o qual deve apresentar elevada razão sinal-ruído e resposta reprodutível. Adicionalmente, outras características importantes incluem: baixa corrente residual, amplo intervalo útil de potencial, elevada condutividade elétrica e resistência mecânica, baixo custo e atóxico. [29]

Desde o desenvolvimento da polarografia em 1922 por Jaroslav Heyrovsky e em muitos trabalhos publicados até hoje, um dos eletrodos de trabalho mais amplamente utilizados é o eletrodo de mercúrio, tanto os de gota como os sólidos, formados por filmes de mercúrio ou amalgama, para a determinação de espécies inorgânicas ou orgânicas. [30-32]

Esse eletrodo é amplamente utilizado em análises de redissolução por ter características bastante interessantes do ponto de vista operacional, como, por exemplo, fácil renovação de superfície, principalmente quando se utilizam os eletrodos gotejantes, o que evita / minimiza os problemas como a passivação do eletrodo ou contaminação. [33-34]

Outra propriedade apresentada por este tipo de eletrodo é seu elevado sobrepotencial de formação de hidrogênio, o que acarreta em um elevado intervalo útil de potencial no sentido catódico, permitindo a análise de espécies mais dificilmente redutíveis, em que outros eletrodos comumente utilizados, como platina e ouro, que não podem ser empregados sem que ocorra a interferência do sinal pela formação de hidrogênio. [33-34]

Embora a utilização de eletrodos a base de mercúrio apresente vantagens, a utilização desse tipo de eletrodo se torna dispendiosa uma vez que muitas precauções devem ser tomadas em seu uso rotineiro, como por exemplo, garantir a total recuperação da gota após as análises ou até mesmo cuidado no manuseio das soluções do metal utilizadas na formação dos filmes, devido à elevada toxicidade. [35]

Dessa maneira, a busca por novos materiais que apresentam características semelhantes às aquelas apresentadas pelo eletrodo de mercúrio, em relação à robustez e também ao desempenho analítico, porém ambientalmente amigáveis têm recebido grande destaque. Dentre as diversas possibilidades para tal, os eletrodos de bismuto e de antimônio podem ser citados.

1.3.1 Eletrodos Quimicamente Modificados

Muitos pesquisadores dedicam-se a estudos envolvendo a modificação da superfície de eletrodos, como um meio de atribuir e controlar suas propriedades. A modificação de eletrodos tem como principal finalidade pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução, como forma de alterar a reatividade, promovendo algumas reações de interesse e inibindo outras interferentes (FIGURA 8), alterando dessa forma a seletividade e a sensibilidade do sensor, favorecendo assim, o desenvolvimento de eletrodos para vários fins e aplicações. [36-37]



Figura 8. Princípio de funcionamento de um eletrodo quimicamente modificado, onde a modificação da superfície favorece apenas o processo redox de interesse.

O eletrodo quimicamente modificado (EQM) pode ser dividido em duas partes: o eletrodo base, o qual irá sofrer a modificação e o agente químico de modificação, que vai ser incorporado ao eletrodo base. O material eletródico base deve apresentar características eletroquímicas favoráveis, tal como, ser de fácil modificação. [37]

O esquema demonstrado na FIGURA 9 traz os principais enfoques analíticos e estratégias envolvidos na construção e desenvolvimento de EQMs.

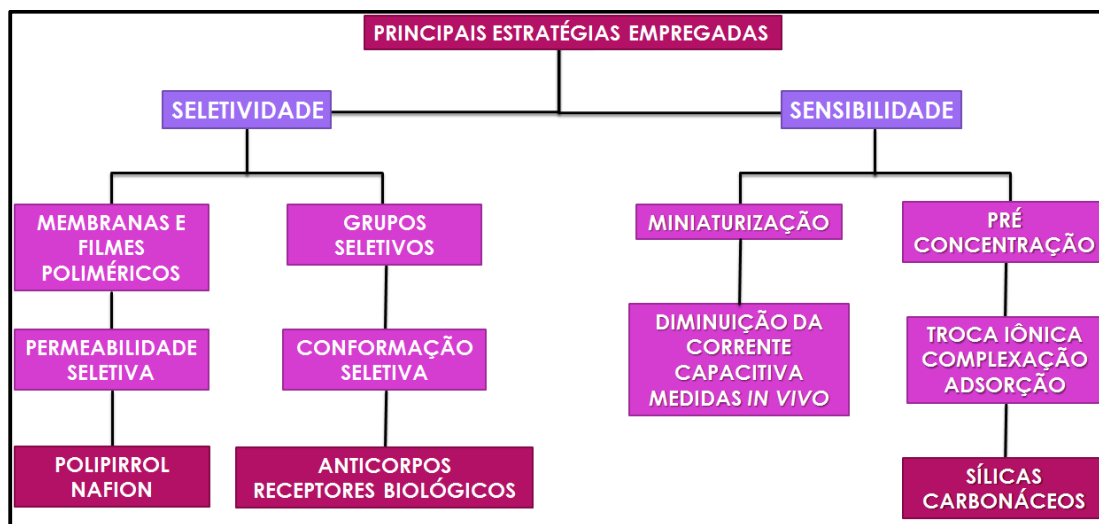


Figura 9. Principais estratégias para o desenvolvimento de EQMs.

A modificação dessa superfície pode ser por diferentes fenômenos, tais como [37]:

A. Adsorção: Consiste na imersão da superfície a ser modificada em uma solução contendo o agente modificador e em seguida é feita a secagem da superfície. É um método rápido e simples, porém ocorre apenas a modificação superficial do eletrodo. Além disso, a adsorção de uma espécie na superfície de um eletrodo depende da afinidade das duas espécies e também do equilíbrio químico de adsorção e dessorção. Por isso, métodos adsortivos podem gerar problemas de reprodutibilidade de sinal quando a adsorção não é efetiva.

B. Ligação covalente: O modificador é ligado covalentemente através de reações de grupamentos na superfície do eletrodo com diferentes modificadores a fim de gerar ligações efetivas entre o eletrodo base e a espécie a ser incorporada. A vantagem dessa metodologia é a formação de fortes ligações entre o eletrodo e o modificador, evitando a lixiviação do mesmo, porém o tempo envolvido para ocorrer a modificação é relativamente demorado.

C. Recobrimento com membranas poliméricas: Essa forma de modificação de eletrodos consiste na deposição de um filme polimérico sobre a superfície eletródica. Os métodos de geração de membranas poliméricas podem ser através da adição de uma solução contendo o polímero e consequente evaporação do solvente, como também baseado na eletropolimerização do

monômero. Como vantagem, a formação de várias camadas sobre o eletrodo pode acarretar em uma intensificação na magnitude da resposta eletroquímica. As características físico-químicas do polímero empregado implicam em diferentes aplicações.

D. Materiais compósitos: São formados pela combinação de duas ou mais fases de diferentes naturezas. A sua principal vantagem em relação à construção de sensores eletroquímicos com esse material eletródico, é a possibilidade de modificação interna do material e não apenas de uma monocamada superficial, diferente do que ocorre com os eletrodos sólidos convencionais. O eletrodo compósito mais difundido na literatura é o de pasta de carbono (EPC). A proposta para este eletrodo foi desenvolvida por Adams, em 1959, para o emprego desse eletrodo em regiões anódicas, onde a aplicação do eletrodo de mercúrio não é favorável. Esses eletrodos são formados pela mistura de fases de diferentes naturezas na qual cada fase mantém sua característica individual e a mistura pode apresentar novas características físicas, químicas ou biológicas diferentes das características de cada componente separadamente. Os EPCs são formados por uma fase condutora (geralmente a base de carbono) e uma fase aglutinante (geralmente um líquido orgânico). Entre as principais vantagens do eletrodo de pasta de carbono estão o preparo simples, a possibilidade de construção de eletrodos nos mais variados suportes, além de uma rápida e fácil renovação da superfície. Outras propriedades importantes incluem a superfície rugosa, a baixa corrente residual, uma maior superfície ativa e uma grande facilidade em ser modificado. [38-41]

A partir da estratégia que será adotada, os EQMs desenvolvidos podem melhorar a resposta com relação aos eletrodos não modificados por diferentes mecanismos de resposta [37;42]:

A. Transformação Química: um analito pode reagir seletivamente com um reagente apropriado imobilizado no eletrodo e o produto formado ser determinado eletroquimicamente (espécie eletroativa).

B. Eletrocatalise: A principal função da eletrocatalise é reduzir a energia de ativação da transferência de elétrons, aumentando a velocidade de transferência e, conseqüentemente, ampliando o sinal analítico. A diminuição do sobrepotencial de ativação propicia um aumento na seletividade devido à

possibilidade de aplicar potenciais mais baixos, eliminando assim a eletrólise de outras espécies.

C. Exclusão de interferentes: A maioria dos eletrodos modificados descritos na literatura, para exclusão de interferentes, é preparada usando-se membranas poliméricas fixadas na sua superfície. A diferença de permeabilidade do analito e das substâncias potencialmente interferentes em uma membrana pode controlar o acesso destas substâncias à superfície do eletrodo. Tal exclusão pode ocorrer por meio físico ou por interação eletrostática com base no tamanho e/ou carga da espécie interferente.

D. Pré-concentração: Para soluções diluídas, a pré-concentração de um analito de interesse pode ser feita em eletrodo modificado com a função de receptor. A acumulação é preferencialmente causada pela interação química seletiva entre o analito e o agente modificador. Os mecanismos de acumulação podem envolver os processos de complexação, troca iônica, ligação covalente ou quimissorção, dependendo do tipo de agente modificador utilizado.

Um modificador de interesse que pode ser utilizado para atribuir uma característica de pré-concentração sobre a superfície do eletrodo é o biochar. A composição estrutural do biochar (altamente funcionalizada) e elevada superfície de contato tem sugerido tal carbonáceo como um adsorvente promissor para os mais diversos fins. [43-44]

1.3.2 Eletrodos de Bismuto

Na eletroquímica, o bismuto começou a ser aplicado como modificador de eletrodos em análises voltamétricas a partir de 2000. O primeiro trabalho envolvendo eletrodos modificados com bismuto foi desenvolvido por Wang e colaboradores [45] onde filmes de bismuto foram depositados sobre a superfície de uma fibra de carbono e de um eletrodo de carbono vítreo, os quais foram utilizados para a determinação de chumbo (II), cádmio (II) e zinco (II), sendo que os resultados obtidos pelos eletrodos contendo filmes de bismuto foram comparáveis aos resultados obtidos empregando-se um eletrodo de mercúrio.

Os eletrodos de bismuto têm sua aplicação bastante ampla, tanto para a determinação de espécies orgânicas, e principalmente para a determinação de

espécies inorgânicas. Além disso, diversos formatos de dispositivos baseados nesse metal podem ser obtidos. [46-51] Tais dispositivos são empregados principalmente para a determinação de espécies inorgânicas, devido a sua capacidade de formação de ligas metálicas semelhantes às que ocorrem nos eletrodos de mercúrio, porém compostos orgânicos também têm sido estudados.

Em recente trabalho, Yang e colaboradores [52] descreveram a utilização de um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de bismuto (NanoBi) para a determinação de chumbo (II) e cádmio (II) através voltametria de redissolução anódica por onda quadrada. Após a otimização de diversos parâmetros, como quantidade de NanoBi utilizada para a modificação do eletrodo, potencial de depósito, além da otimização de parâmetros da técnica, os autores descrevem que o eletrodo proposto obteve picos de resposta bem definidos e com elevada reprodutibilidade, alcançando assim limites de detecção na ordem de $3,8$ e $3,5 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ para chumbo (II) e cádmio (II), respectivamente. O eletrodo foi aplicado para a determinação dos analitos em amostras de água, e as respostas obtidas foram validadas através de método comparativo, o que sugeriu que o dispositivo proposto pode ser utilizado para tal finalidade.

Morales e colaboradores [53] relatam a utilização de um eletrodo de disco de bismuto rotativo para o monitoramento de metais pesados em amostras ambientais e biológicas. Esse eletrodo foi utilizado para a determinação voltamétrica de zinco (II) em amostras de água de chuva, água de torneira e em urina, por voltametria de redissolução anódica em condição de onda quadrada. A faixa linear de resposta apresentada por tal eletrodo foi de $3,0 \times 10^{-7}$ a $2,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $1,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Em relação às amostras reais, as respostas obtidas pelo eletrodo obtiveram excelente correlação com aquelas obtidas com o método comparativo, resultando em um novo campo de aplicação para dispositivos de bismuto.

Ainda, os eletrodos de bismuto podem ser utilizados para a determinação de espécies de interesse em alimentos, como descrevem Ping e colaboradores [54], onde um eletrodo impresso modificado com filme de óxido de grafeno reduzido foi utilizado como plataforma para a eletrodeposição de um filme de bismuto, o qual foi utilizado para a determinação de cádmio (II) e chumbo (II) em amostra de leite. O dispositivo desenvolvido apresentou uma faixa linear

de resposta de $8,8 \times 10^{-9}$ a $5,3 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para cádmio e de $4,8 \times 10^{-9}$ a $2,8 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para chumbo, com limites de detecção na ordem de $4,4 \times 10^{-9}$ e $3,8 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹, respectivamente. Os autores afirmam que o eletrodo pode ser utilizado diretamente na amostra de leite, alcançando valores de recuperação satisfatórios, sugerindo baixa interferência da matriz.

Bia e colaboradores [55] descrevem um método rápido e simples para a determinação de atrazina por voltametria de onda quadrada empregando um eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de bismuto. Ferramentas multivariadas foram utilizadas na otimização dos parâmetros, resultando em um planejamento fatorial de 2⁴. Em condições otimizadas, o dispositivo apresentou resposta linear na faixa de $1,8$ a $7,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com limites de detecção e quantificação de $0,6$ e $1,8 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectivamente. A determinação do analito em amostras de água fortificadas apresentaram valores de recuperação na faixa de 95,3 a 102,7 %, demonstrando que não ocorrem interferências significativas em relação à matriz, bem como os resultados obtidos são satisfatórios para um intervalo de confiança de 95%.

Já Sopha e colaboradores [56] propõem um método rápido para a determinação de citrato de sildenafil empregando um eletrodo de filme de bismuto. O eletrodo apresentou um limite de detecção da ordem de $1,8 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ após a pré-concentração do analito durante 120 segundos, com uma região linear de trabalho de $1,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. O método apresentou uma boa repetibilidade, com desvio padrão relativo de 1,5%, para 15 medidas, sugerindo que o dispositivo proposto pode ser empregado na determinação de citrato de sildenafil em formulações farmacêuticas, por exemplo.

Outro material com propriedades semelhantes ao bismuto, que pode ser utilizado em substituição ao eletrodo de mercúrio, é o antimônio.

1.3.3 Eletrodos de Antimônio

A utilização de antimônio foi reportada pela primeira vez em 1923, por Uhl e Kestranek, como dispositivo potenciométricos, e durante décadas o conjunto antimônio/óxido de antimônio foi utilizado, com sucesso, para medidas de pH como um eletrodo íon-seletivo, em análises laboratoriais e biomédicas,

uma vez que o equilíbrio superficial do conjunto Sb/Sb₂O₃ já era bem estabelecido. [57-59]

Como dispositivo voltamétrico, o eletrodo de antimônio foi introduzido no ano de 2007, com o trabalho pioneiro de Hocevar e colaboradores [57], que descreveram o emprego de um eletrodo de filme de antimônio em análises de redissolução de metais. O eletrodo foi preparado sobre a superfície de carbono vítreo pela eletrodeposição, em meio ácido, do antimônio presente em solução, 1,0 mg L⁻¹, com a aplicação de -1,2 V. Esse eletrodo foi aplicado na determinação de cádmio (II) e chumbo (II), apresentando uma boa definição e separação dos picos, com resposta linear na faixa de $9,6 \times 10^{-8}$ a $6,7 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para chumbo (II) e $1,7 \times 10^{-7}$ a $1,2 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ para cádmio (II), com um tempo de pré-concentração de 120 segundos. Os limites de detecção calculados foram de $4,3 \times 10^{-9}$ e $6,2 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ para chumbo (II) e cádmio (II), respectivamente.

Os autores descrevem ainda que as respostas voltamétricas obtidas quando se comparam o dispositivo proposto, um eletrodo de filme de bismuto e um eletrodo de filme de mercúrio são bastante similares (FIGURA 10), sugerindo que ocorrem a formação de ligas entre o analito e o antimônio, da mesma maneira que ocorrem com os eletrodos de bismuto e mercúrio.

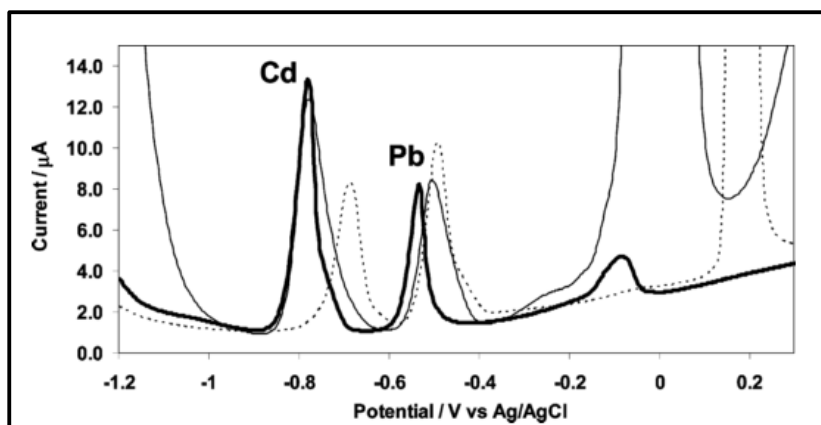


Figura 10. Voltamogramas de redissolução anódica de Cd(II) e Pb(II) sobre eletrodos de filme de antimônio (linha grossa), filme de bismuto (linha fina) e filme de mercúrio (linha pontilhada)[57].

As principais vantagens analíticas para a utilização de eletrodos de antimônio em análises voltamétricas incluem picos bem definidos e reproduzíveis, amplo intervalo útil de potencial no sentido catódico de varredura, devido ao seu elevado sobrepotencial para a redução da água e formação de

hidrogênio gasoso, e elevada razão sinal-ruído. Ainda, a baixa toxicidade, quando comparado ao mercúrio, desprezível interferência do oxigênio dissolvido, baixo sinal próprio em análises de redissolução, fácil preparação e ampla possibilidade com a obtenção do dispositivo em diversos formatos, também tornam a utilização desse elemento atrativa. [60-61]

Por ter sua utilização recente e direcionada para a substituição dos eletrodos de mercúrio, as principais aplicações dos eletrodos de antimônio são na determinação de espécies inorgânicas. A maior parte dos trabalhos reportados na literatura descreve o emprego eletrodos de antimônio para a determinação das espécies modelo cádmio e chumbo, sendo o trabalho de Hocevar e colaboradores [57] o pioneiro e após este, diversos outros autores descrevem com sucesso a utilização desse eletrodo. [62-64] Metais como níquel (II) [65], mercúrio (II) [66], cobre (II) [67] e bismuto (II) [68] são outros exemplos de analitos estudados e determinados empregando-se eletrodos de antimônio.

Porém, o emprego dos dispositivos a base de antimônio não tem seu uso restrito a espécies inorgânicas, estendendo-se também, em menor quantidade de publicações, à determinação de espécies orgânicas.

Nigovic e colaboradores [69] descrevem que o emprego de um dispositivo de antimônio para a determinação de sulfassalazina em formulações farmacêuticas se mostrou eficiente e reproduzível, com desvios relativos entre as medidas de 0,7 %. A faixa de resposta linear obtida para o método foi de $2,0 \times 10^{-6}$ a $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, alcançando o limite de detecção na ordem de $7,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

Em outro trabalho, Nigovic e colaboradores [70] descrevem a determinação voltamétrica do fármaco pantoprazol, por SWV. O método desenvolvido apresentou considerável reprodutibilidade, com desvios de 0,8 %, e limite de detecção calculado de $9,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. O método foi aplicado para a quantificação do fármaco em formulações comerciais.

Já Moraes e colaboradores [71] relatam o emprego de um compósito a base de antimônio para o estudo do comportamento e determinação de bisfenol A, um desregulador endócrino decorrente de processos de indústrias petroquímicas, farmacêuticas, etc. Os autores empregaram a técnica de pulso diferencial, apresentando uma sensibilidade de $0,32 \mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção calculado de $5,2 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$. Estudos de repetibilidade e

reprodutibilidade das respostas obtidas pelo dispositivo foram realizados, apresentando desvios relativos menores de 2,0 %.

A possibilidade de determinação simultânea de sulfametoxazol e trimetropima foi estudada e descrita por Cesarino e colaboradores [72], que se utilizaram de um eletrodo de antimônio aliado a voltametria de pulso diferencial. Os autores descrevem a possibilidade de análise simultânea dos fármacos em amostras de águas naturais fortificadas com até $0,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de cada fármaco, apresentando recuperações na faixa de 99,1 a 104,8 % para sulfametoxazol e de 97,2 a 101,6 % para trimetropima.

Além de uma gama variada de aplicações apresentada pelos eletrodos de antimônio, a possibilidade de obtenção/fabricação desses dispositivos também apresenta um elevado leque de opções. Os eletrodos de filme de antimônio são os mais difundidos na literatura. Raras exceções, os filmes de antimônio são formados sobre substratos carbonáceos, tais como fibra de carbono [73], carbono vítreo [74-76] e pasta de carbono [77-78].

Os eletrodos de filme formados *in situ* são comumente descritos na literatura, já tem sua resposta bastante conhecida e normalmente são superiores aos outros eletrodos de antimônio, obtidos de diferentes formas. Nesse modo, os íons antimônio (III) são adicionados diretamente na solução que contém o analito e o filme de antimônio é eletrodepositado sobre a superfície do eletrodo durante a análise. Neste método de modificação, as condições instrumentais para a eletrodeposição do filme são aquelas utilizadas para a análise da espécie de interesse. A modificação *in situ* simplifica o procedimento experimental e diminui o tempo gasto em uma análise, porém limitações em relação ao pH utilizado na solução podem complicar o experimento, uma vez que os íons antimônio (III) são facilmente hidrolisados em meios com pH maior que 2, e dependendo do analito a ser determinado, meios com pH mais elevado são necessários, tornando tal método de modificação incompatível. [79]

Já os eletrodos construídos *ex situ* são formados em uma solução a parte daquela em que o analito se encontra e podem ser depositados na superfície do eletrodo base com ou sem a aplicação de potencial. Após a formação do filme, o eletrodo é retirado da solução que contém os íons antimônio (III) e é levado para a solução que contém o analito. Eletrodos formados *ex situ* exibem algumas características intrínsecas, que diferem dos eletrodos formados

in situ através da eletrodeposição, como por exemplo: não há necessidade de uma superfície condutora, ou totalmente condutora (resultando em um procedimento mais barato), complicações referentes à solução de eletrodeposição, como pH, são evitadas, superfície reprodutível e morfologia dos eletrodos pode ser assegurado e, por fim, há possibilidade de produção em massa de dispositivos de baixo custo e com tamanho reduzido. [60;74]

Além dos filmes, outros formatos podem ser encontrados, como eletrodo de pasta de carbono modificado com fluoreto de antimônio (III) [80], eletrodo de pasta de carbono modificado com pó de antimônio [61] e nanopartículas e nanocompósitos de antimônio [63-64;72], sendo esse último formato bastante promissor, pois visa aliar as características eletroquímicas do antimônio com as vantagens inerentes aos nanomateriais, tais como melhora no transporte de massa, maior área superficial e melhor razão sinal-ruído.

1.4 BIOCHAR

Biochar (*biomass + charcoal*), termo científico recém estabelecido, é definido como um subproduto da queima de biomassa, proveniente de rejeitos orgânicos, como madeira ou folhas, em condições de temperatura não muito elevadas (menor que 700 ° C) e baixa quantidade de oxigênio. [43]

Originalmente, a produção de biochar é realizada pela pirólise ou gaseificação da biomassa, sendo que os produtos obtidos da conversão da biomassa constituem de uma fase líquida (bio-óleo), uma fase sólida (biochar) e uma fase gasosa (gás de síntese – H₂, CO e CO₂), conforme ilustra a FIGURA 11. Durante o processo de produção, a transformação da energia em calor é relativamente baixa, resultando em uma grande quantidade de carbono armazenada na estrutura do biochar e pouca liberação de gases para a atmosfera, como por exemplo o CO₂. [44]

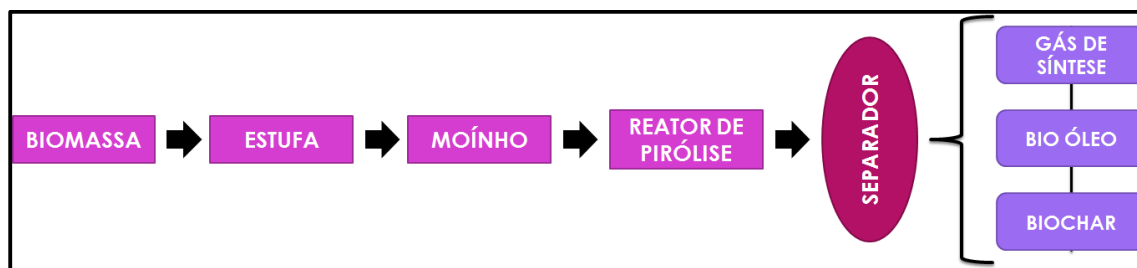


Figura 11. Etapas do processo de pirólise da Biomassa e obtenção dos produtos. Adaptado de Xu [44].

A qualidade e a aplicação final do biochar depende de várias características resultantes da preparação do carvão, como os parâmetros do processo de pirólise (temperatura e tempo de residência, por exemplo). A TABELA 3 traz as configurações dos parâmetros envolvidos em cada um dos tipos de processos em que o biochar pode ser obtido. Além disso, o tipo de matéria-prima também influencia na natureza do biocarvão produzido. As matérias-primas incluem principalmente lascas de madeira, resíduos vegetais e resíduos orgânicos em geral. [43-44;81]

TABELA 3. Condições de operação e produtos obtidos pelos processos de pirólise e gaseificação.

Processo	Temperatura / °C	Tempo de Residência	Produtos / %		
			Líquido (bio-óleo)	Sólido (biochar)	Gás (gás de síntese)
Pirólise rápida	300 – 1000	Segundos	75	12	13
Pirólise moderada	~500	Segundos – minutos	50	25	25
Pirólise lenta	100 – 1000	Minutos – horas	30	35	35
Gaseificação	>800	Segundos – minutos	5	10	85

A composição estrutural do biochar é fortemente influenciada pela temperatura utilizada durante o processo de produção, sendo que com o aumento da temperatura há o aumento de estruturas de carbono, diminuindo-se as quantidades de hidrogênio e oxigênio. A FIGURA 12 exemplifica os fenômenos que ocorrem com o aumento da temperatura.

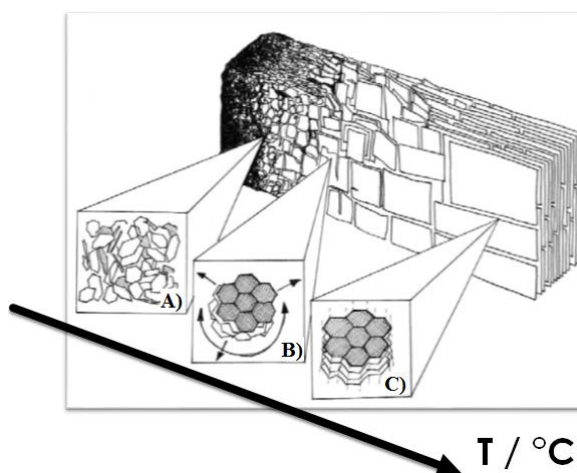


Figura 12. Modificação da estrutura do biochar em função do aumento da temperatura. Adaptado de Joseph e Lehmann [43].

Em temperaturas mais baixas, há presença majoritária de carbono amorfo e com elevado grau de desordem na estrutura interna. Existe, ainda, a presença de elevadas quantidades de funcionalizações devido à presença de oxigênio e hidrogênio (provenientes da celulose, hemicelulose e lignina – constituintes básicos da biomassa). Com o aumento da temperatura de pirólise ocorre a presença majoritária de estruturas aromáticas e organizadas, como aquelas presentes no grafite, e uma diminuição da quantidade de funcionalizações, uma vez que ocorre a desidratação e desoxigenação da matéria. O aumento da temperatura acarreta, também, no aumento da área superficial do biochar, devido ao aumento da porosidade do material. Tal fenômeno pode ser atribuído pela destruição de grupamentos éster e alquil-alifáticos e da exposição do núcleo aromático de lignina e também com a diminuição dos espaços interplanares devido à maior organização que ocorre em maiores temperaturas. [43;81]

O biochar tem sido sugerido como um adsorvente promissor para a remediação de solos, água e ar, devido a sua elevada capacidade de sorção de espécies, orgânicas e inorgânicas. [44] Materiais carbonáceos em geral vêm sendo aplicados durante anos como materiais adsorventes para espécies orgânicas e inorgânicas no tratamento de solos e águas contaminadas. [82-84] O carbonáceo mais comumente utilizado é o carvão ativado, que é obtido a partir de um material a base de carbono submetido a um tratamento (ativação), químico ou térmico, a base de oxigênio que gera um material com elevada

porosidade e área superficial, e devido a tais características tem seu uso destinado à remoção de espécies poluentes em diferentes matrizes. [85-86]

Em recente trabalho publicado por Ahmad e colaboradores [81], os autores descrevem algumas características que diferem o biochar do carvão ativado, sendo que a mais relevante está relacionada ao fato do biochar não necessitar de pré-tratamentos ou ativação de sua superfície para que possa ser utilizado. Além disso, suas funcionalizações, principalmente grupos carboxilas, hidroxilas e fenólicos, interagem de forma eficaz com os contaminantes do solo. Ainda, o biochar não possui uma composição totalmente carbonizada, como o carvão ativado possui, sendo composto por diferentes proporções de fase carbonizada e fase orgânica amorfa. Os autores afirmam então, que por essas características multifuncionais os diversos tipos de biochar mostram um grande potencial como adsorvente ambiental eficaz para os contaminantes orgânicos e inorgânicos em solo e água. [87]

Os contaminantes inorgânicos, em sua maioria metais, diferentemente dos contaminantes orgânicos não são biodegradáveis, e a sua elevada biodisponibilidade os torna bastante tóxicos, situação que pode ser contornada com a utilização de biochar para a remediação de solos contaminados com estas espécies. [87-88] Os mecanismos pelos quais as interações com as espécies inorgânicas ocorrem estão sumarizadas na FIGURA 13.

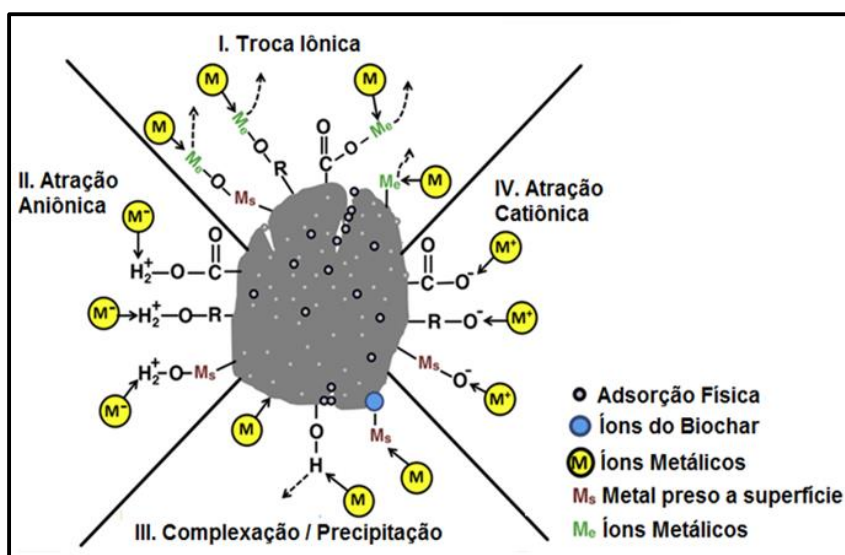


Figura 13. Mecanismos de interação do biochar com compostos orgânicos. Adaptado de Ahmad e colaboradores [81].

Entre os fenômenos envolvidos na interação do biochar com os contaminantes inorgânicos, podem ser citados [81]:

A. Precipitação: ocorre pela adsorção física dos metais na superfície do biochar, a qual contém uma grande quantidade de microporos, pela complexação com a matéria orgânica ou com os óxidos minerais presentes no biochar.

B. Atração catiônica: complexação dos cátions metálicos com os grupos funcionais negativamente carregados, geralmente hidroxilas e carboxilas desprotonadas.

C. Atração aniônica: complexação dos ânions metálicos com os grupos funcionais positivamente carregados, geralmente hidroxilas e carboxilas protonadas.

D. Troca iônica: liberação dos metais que naturalmente estão ligados aos grupos funcionais ou óxidos minerais do biochar, com posterior interação destes grupos funcionais e óxidos com os íons metálicos contaminantes.

Explorando as propriedades do biochar, anteriormente relatadas, alguns trabalhos podem ser encontrados na literatura, os quais se utilizam do biocarvão na construção dispositivos voltamétricos para a determinação de diferentes espécies metálicas. [89-91]

O trabalho pioneiro de Suguhira e colaboradores [89] descrevem a construção de eletrodos de pasta de carbono modificado com biochar para a determinação de íons cádmio (II) e chumbo (II) por voltametria adsorptiva de redissolução anódica por pulso diferencial (DPA_{ads}SV). Diferentes amostras de biochar obtidas a partir do farelo de mamona em diferentes configurações de pirólise foram empregadas na modificação dos eletrodos de pasta de carbono, que submetidos a varreduras de DPA_{ads}SV, após uma etapa de pré-concentração em circuito aberto dos analitos, $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de chumbo (II) e $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de cádmio (II), durante 600 segundos, tiveram suas respostas voltamétricas comparadas. Os autores descrevem que a maior ou menor presença de grupamentos funcionais, bem como a presença, ou não, de porosidades, estão intimamente relacionados aos parâmetros nos quais o biochar foi obtido, refletindo também nas respostas voltamétricas obtidas para cada um dos eletrodos. Apenas a amostra que obteve a melhor resposta, em

função de corrente, foi utilizada na construção do dispositivo e otimização de todo o método. Os limites de detecção alcançados foram da ordem de $6,9 \times 10^{-8}$ e $9,8 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ para cádmio (II) e chumbo (II), respectivamente, com intervalos de resposta linear de $2,5 \times 10^{-7}$ a $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para cádmio e $5,0 \times 10^{-8}$ a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para chumbo. As análises em amostras simuladas de efluentes industriais apresentaram porcentagens de recuperação no intervalo de 93,8 a 106,3 %, indicando que não há efeitos significativos de matriz sobre as respostas do eletrodo.

Oliveira e colaboradores [90] utilizaram um eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar para a determinação íons cobre (II) em bebidas destiladas. Após a otimização de parâmetros experimentais, tais como composição da pasta de carbono modificada, pH do eletrólito suporte e tempo de pré-concentração, além de parâmetros relacionados à técnica de pulso diferencial, o eletrodo obteve uma faixa linear de resposta de $1,5 \times 10^{-6}$ a $3,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, alcançando limites de detecção e quantificação calculados de $4,0 \times 10^{-7}$ e $1,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Os resultados obtidos para o método desenvolvido nas análises das amostras de destilados foram comparados com as respostas obtidas pelo método comparativo, espectroscopia de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado, e apresentaram-se concordantes com um nível de confiança de 95%.

Em recente publicação, Oliveira e colaboradores [91] descrevem novamente o emprego de um eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar, utilizado como substrato para a obtenção de nanogotas de mercúrio, com diâmetro entre 16 e 38 nm. O dispositivo desenvolvido foi utilizado na pré-concentração e determinação de íons zinco (II) em formulações comerciais de colírio e pomada para queimadura, por voltametria de redissolução anódica por pulso diferencial. O mecanismo de interação ocorre espontaneamente entre a superfície do biochar e os íons zinco presentes nas amostras, que são reduzidos sobre as nanogotas de mercúrio, que promovem uma elevada concentração localizada do analito refletindo em uma melhora do sinal de redissolução anódica. A faixa linear de resposta alcançada foi de $5,0 \times 10^{-7}$ a $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção e quantificação de $1,7 \times 10^{-7}$ e $5,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente e sensibilidade de $5,2 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$. Os resultados da determinação de zinco em amostras reais foram comparados com o método de

espectroscopia de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado e apresentaram-se concordantes com um nível de confiança de 95%.

Em relação aos estudos que envolvem a aplicação de biochar para a remediação de solos contaminados por compostos orgânicos estão concentrados nas classes dos herbicidas, corantes e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. [92-94] Os mecanismos pelos quais as interações ocorrem estão intimamente ligados com as características superficiais do biocarvão, tais como, porosidade e funcionalizações. A FIGURA 14 é uma representação de quais mecanismos podem estar envolvidos no sucesso da utilização do biochar para adsorção de substâncias orgânicas.

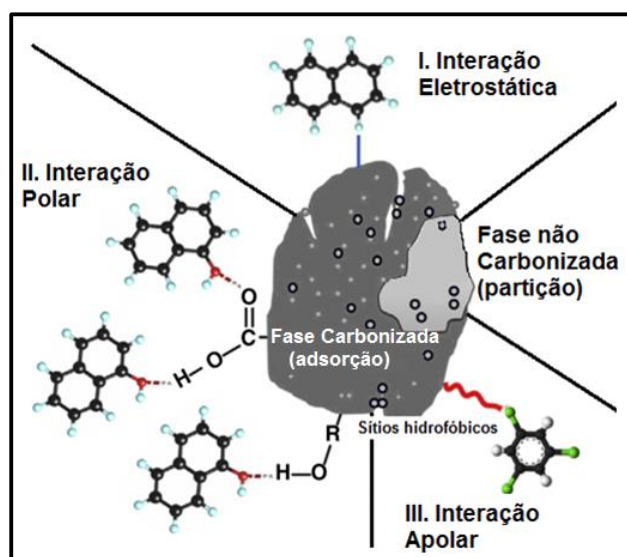


Figura 14. Mecanismos de interação do biochar com compostos orgânicos. Adaptado de Ahmad e colaboradores [81]

Os mecanismos majoritários de interação propostos envolvem os seguintes fenômenos, químicos e físicos [81]:

A. Interação Eletrostática: interação entre a superfície do biochar, geralmente negativamente carregada, e compostos orgânicos positivamente carregados. Outra possibilidade de interação baseia-se na repulsão eletrostática entre compostos orgânicos negativamente carregados e o biochar, através de ligações H.

B. Interação Polar: interação entre o biochar e compostos orgânicos polares. Em geral, esta atração ocorre em amostras de biochar obtidos com baixas temperaturas de pirólise (< 500°C). Nessas amostras há uma elevada

concentração de grupos funcionais contendo O e H, tornando a superfície do biocarvão polar, permitindo a interação com compostos semelhantes.

C. Interação Apolar: interações entre o biochar e compostos orgânicos apolares. Em geral, esta atração ocorre em amostras de biochar produzidos em altas temperaturas de pirólise ($> 500^{\circ}\text{C}$). Tais amostras são compostas, majoritariamente, por estruturas aromáticas e mais apolares, devido à perda de elementos como O e H com o aumento da temperatura e presença de elevada quantidade de carbono. Desta maneira, os compostos orgânicos com polaridade semelhante à esta superfície têm fácil acesso aos sítios hidrofóbicos do biochar, podendo interagir com essa superfície.

D. Partição ou adsorção: processo físico de interação entre a superfície microporosa do biochar e os compostos orgânicos não-iônicos, com a subsequente difusão para as frações não-carbonizadas e carbonizadas do biochar.

Em relação aos dispositivos voltamétricos, não existem relatos na literatura da utilização de biochar para a construção desses dispositivos para o estudo e determinação de espécies orgânicas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Preparação e construção de eletrodo a base de carbono, modificado com biochar e antimônio, para posterior aplicação como sensor eletroquímico na determinação de paraquat.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I.** Preparar eletrodos a base de carbono modificados com o biochar;
- II.** Incorporar o antimônio no eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar;
- III.** Caracterizar morfolologicamente e estruturalmente o eletrodo obtido através de técnicas microscópicas e espectroscópicas;
- IV.** Caracterizar e avaliar as respostas obtidas para o eletrodo proposto por técnicas voltamétricas;
- V.** Verificar a potencialidade do eletrodo como sensor eletroquímico para determinação de paraquat;
- VI.** Otimizar os parâmetros da metodologia desenvolvida para determinação do analito;
- VII.** Utilizar o dispositivo proposto, sob condições otimizadas, na determinação de paraquat em amostras de água de torneira e sucos de frutas cítricas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 REAGENTES

Todos os reagentes utilizados para o preparo das soluções foram de grau analítico e utilizados sem purificação prévia. Todas as diluições foram feitas em água destilada e purificada pelo sistema Milli-Q da Millipore, com resistividade maior que $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$. Os reagentes foram pesados em balança analítica Mettler Toledo, Modelo AL204, com precisão de $\pm 0,1 \text{ mg}$. As medidas de pH das soluções foram realizadas em pHmetro Metrohm, Modelo 780, com eletrodo combinado de vidro Ag/AgCl KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$.

3.2 PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO E PASTA DE CARBONO MODIFICADA COM BIOCHAR (EPCM)

A pasta de carbono é composta por grafite em pó e óleo mineral (Nujol®), nas proporções de 75 e 25 % (m/m), respectivamente. Para a pasta de carbono modificada com biochar, se utiliza além do grafite em pó e do óleo mineral, o modificador biochar, nas proporções (% m/m): 25% de óleo mineral, (75-X%) grafite e X% de biochar.

Os componentes são homogeneizados manualmente em almofariz com pistilo e após total homogeneização dos componentes a pasta é compactada em um suporte de PVC ($\Phi_{\text{int}} = 2,5 \text{ mm}$), com um fio de cobre para contato elétrico, sendo o eletrodo obtido na forma de um êmbolo (FIGURA 15).

O biochar utilizado foi fornecido pelo Laboratório de Processos e Projetos Ambientais, sob coordenação do Prof. Dr. Antônio S. Mangrich. O mesmo foi produzido por pirólise do farelo de mamona a 300°C , com uma taxa de aquecimento de 5°C por minuto e tempo de permanência de 30 minutos.

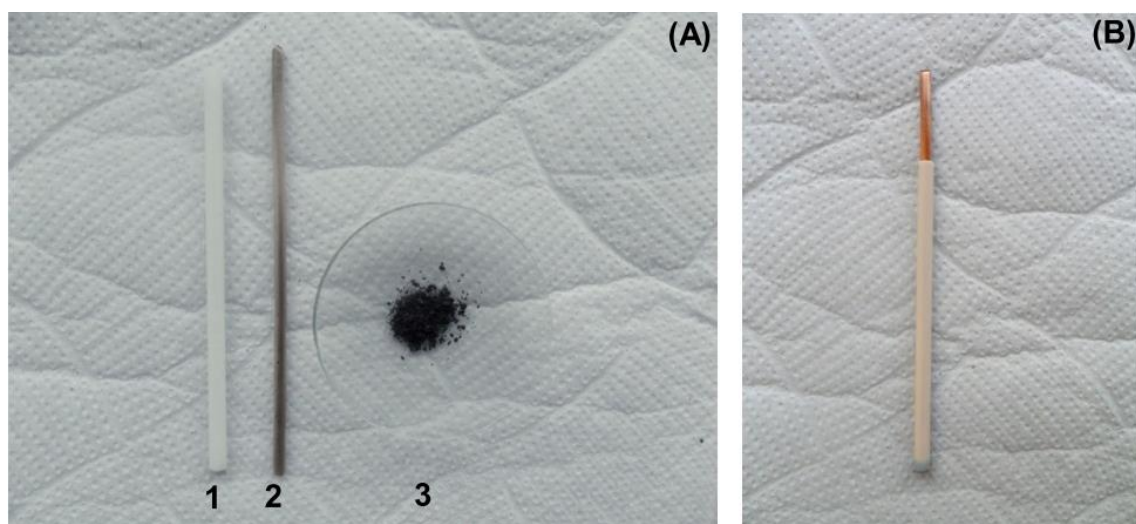


Figura 15. (A) Componentes utilizados para a construção dos eletrodos de pasta de carbono, sendo (1) suporte do eletrodo, (2) contato elétrico e (3) pasta de carbono. (B) Eletrodo pronto para o uso.

3.3 INCORPORAÇÃO DE ANTIMÔNIO AOS ELETRODOS CONSTRUÍDOS

Os eletrodos construídos na etapa 3.2 são deixados imersos, em condição de circuito aberto (sem a aplicação de potencial), em uma solução contendo íons Sb^{3+} , em HCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, de concentração igual a $8,76 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, durante diferentes períodos de tempo. Após o procedimento, o eletrodo é cuidadosamente lavado com água destilada e levado para a célula eletroquímica. Esta incorporação é considerada a ETAPA 1 do procedimento voltamétrico relatado a seguir, e o eletrodo obtido será chamado como EPCMSb.

3.4 MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS

As medidas voltamétricas foram efetuadas em um potenciostato-galvanostato $\mu\text{Autolab}$ Tipo III, gerenciado pelo programa NOVA 1.10. O eletrólito suporte utilizado durante os estudos foram soluções de ácido acético, tampão acetato e acetato de sódio com concentração igual $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em uma célula voltamétrica convencional de três eletrodos: Ag/AgCl (KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$) como eletrodo de referência, Pt como eletrodo auxiliar, e o EPCMSb como eletrodo de trabalho.

O procedimento experimental para realização das medidas pode ser sumarizado em cinco etapas, ilustrados na FIGURA 16.

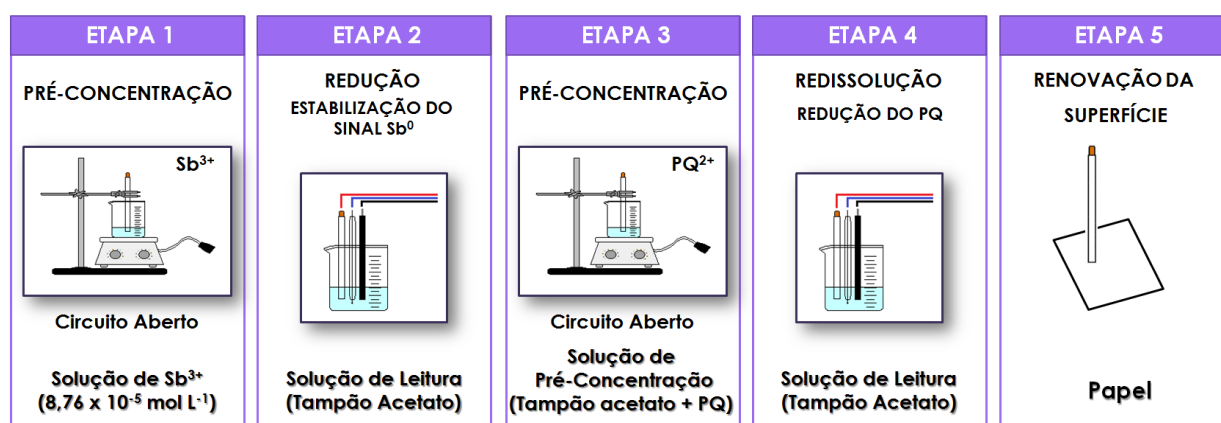


Figura 16. Etapas do procedimento voltamétrico.

Etapa 1: O eletrodo é exposto a uma solução contendo $Sb(III)$, para a incorporação do metal no biochar, em condições de potencial de circuito aberto.

Etapa 2: O eletrodo é cuidadosamente lavado com água destilada e levado a célula eletroquímica para redução dos íons $Sb(III)$ por SWV e obtenção do sinal de fundo (branco).

Etapa 3: O eletrodo é exposto ao PQ, durante determinado período de tempo, posteriormente avaliado e otimizado, para a pré-concentração do analito na superfície do eletrodo.

Etapa 4: O eletrodo é cuidadosamente lavado com água destilada e submetido à varredura catódica, em condições de voltametria de onda quadrada (SWV), para a obtenção do sinal referente à redução do PQ.

Etapa 5: Ao final do experimento é realizada uma etapa de remoção física do Sb/PQ da superfície eletródica, através do polimento do eletrodo.

3.4.1 Caracterizações Voltamétricas Preliminares

3.4.1.1 Efeito da presença do biochar na modificação da pasta de carbono e comportamento voltamétrico do $Sb(III)$ sobre EPC e EPCM

Primeiramente foi realizado um estudo para investigar o efeito da presença do biochar como modificador da pasta de carbono e também para avaliar qual o comportamento voltamétrico do antimônio sobre a superfície dos eletrodos de pasta de carbono (EPC) e pasta de carbono modificada com biochar (EPCM). Para esse estudo, dois eletrodos construídos conforme descrito em 3.2

foram submetidos a experimentos de voltametria cíclica, com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} e com intervalo de potencial de $-1,0$ a $0,5 \text{ V}$, em meio de HCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $8,76 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de antimônio.

3.4.1.2 Estudo do efeito da presença de Sb(III) na superfície do EPCM – Efeito do sobrepotencial para a formação de hidrogênio

Dois EPCM foram construídos e apenas um deles foi submetido ao procedimento descrito em 3.3, dando origem ao EPCMSb. Os eletrodos, EPCM e EPCMSb, foram submetidos a varreduras no sentido catódico, em meio de tampão acetato $\text{pH} = 4,5$, iniciadas em $0,0 \text{ V}$ e variando-se o potencial final no intervalo de $-1,1$ a $-1,8 \text{ V}$. As correntes foram limitadas de acordo com o voltamograma obtido para o EPCMSb, sendo possível, assim, quantificar o ganho de potencial obtido para tal eletrodo em relação ao eletrodo que não contém o semi-metal em sua superfície.

3.4.1.3 Estimativa da quantidade de Antimônio presente na superfície do EPCMSb

Para a estimativa da quantidade aparente de Sb(III) presente na superfície do eletrodo, um EPCMSb foi construído conforme descrito nas etapas 1 e 2 do procedimento experimental supracitado. Tal eletrodo foi empregado em medidas de voltametria linear, no intervalo de $-0,5$ a $0,3 \text{ V}$, com velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} . O pico referente ao processo faradáico de oxidação do antimônio obtido no voltamograma linear foi então integrado, utilizando as funções do software NOVA 1.10, obtendo-se a área do pico que é a referente a carga gerada no processo obtido. A carga é então utilizada para estimar a quantidade de antimônio na superfície do EPCMSb através da Lei de Faraday.

3.4.1.4 Comportamento voltamétrico do Paraquat sobre o EPCMSb

Foi realizado um estudo a fim de verificar o comportamento voltamétrico do analito sobre a superfície do EPCMSb. Para tal, um EPCM foi construído, conforme descrito em 3.2 e foi submetido ao procedimento descrito em 3.4 e

ilustrado pela FIGURA 16 demonstrada anteriormente. A solução de pré-concentração foi formada por tampão acetato, com pH ajustado em 6,0, e PQ em concentração igual a $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. O tempo de exposição ao analito foi de 300 segundos, e a redução foi realizada por voltametria de onda quadrada com frequência de 50 Hz, amplitude de pulso de 50 mV e incremento de potencial igual a 5 mV.

3.4.1.5 Avaliação da potencialidade do EPCMSb como sensor para PQ e comparação entre diferentes eletrodos

Foi realizado um estudo a fim de verificar a potencialidade e a viabilidade de construção e emprego do EPCMSb como sensor para o PQ, comparando-se a resposta obtida por tal dispositivo com as respostas obtidas por eletrodos comumente utilizados para tal fim. Sendo assim, foram construídos 5 eletrodos, de maneira semelhante ao descrito em 3.2 e 3.3, sendo eles: eletrodo de pasta de carbono (EPC), eletrodo de pasta de carbono modificado com antimônio (EPCSb), eletrodo de pasta de carbono modificado com carvão ativado (EPCCA), eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar (EPCM) e eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar e antimônio (EPCMSb). Os eletrodos foram submetidos às etapas constituintes do procedimento anteriormente descrito, em 3.4, sendo que a concentração de paraquat presente na solução de pré-concentração foi de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e os parâmetros da voltametria de onda quadrada foram: frequência = 100 Hz, amplitude de pulso = 50 mV e incremento de potencial = 4 mV.

As correntes obtidas para cada um dos eletrodos foram coletadas e comparadas através de um gráfico de barras.

3.5 DESENVOLVIMENTO DA METODOLOGIA ANALÍTICA

Os parâmetros experimentais estudados e avaliados para a aplicação do EPCMSb como sensor voltamétrico para a determinação de paraquat são descritos a seguir. As escolhas dos melhores parâmetros foram em função das melhores correntes obtidas quando na presença de PQ $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ exceto para o estudo da região linear. Os estudos foram realizados em triplicata.

3.5.1 Estudo da influência da variação do eletrólito suporte

Foram avaliados os principais eletrólitos utilizados nos experimentos envolvendo as análises de compostos orgânicos: soluções de ácido acético/acetato de sódio e de ácido fosfórico/fosfato de sódio monobásico monohidratado. O eletrólito escolhido foi utilizado para o preparo das soluções de leitura (solução da célula eletroquímica) e pré-concentração (solução que contém o analito). Tais soluções foram preparadas com concentração igual a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH ajustado em 4,5, sendo empregadas na metodologia analítica descrita em 3.4. A partir da melhor resposta, em função de corrente e perfil voltamétrico, o melhor eletrólito foi escolhido e a partir disso foi realizado o estudo da influência do pH na resposta do sensor. A faixa de pH estudada foi de 2,0 a 7,0.

3.5.2 Estudo da influência da porcentagem de modificador na composição da pasta de carbono

Foi avaliada a influência da quantidade de modificador, o biochar, utilizada na composição da pasta de carbono (PC). Foram preparadas diferentes PCs modificadas com biochar, variando-se as porcentagens (m/m) do modificador de 10 a 40, e mantendo-se fixo a quantidade de óleo mineral em 25%. Para cada eletrodo construído, as etapas de 1 a 5, descritas anteriormente, foram realizadas e as respostas em função de corrente foram coletadas e posteriormente comparadas para a escolha da melhor porcentagem.

3.5.3 Estudo da influência do tempo de incorporação de Antimônio

Para avaliar o efeito da presença do antimônio na resposta do sensor frente ao analito proposto, o EPCM foi submetido a diferentes tempos de exposição à solução de Sb^{3+} $8,76 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, na faixa de 0 até 300 segundos. Para cada EPCMSb obtido (etapa 1), foram realizadas as etapas de 2 a 5.

3.5.4 Estudo da influência do tempo de pré concentração em solução de Paraquat

Foi avaliado a influência do tempo de exposição do EPCMSb ao analito na resposta final do sensor. Para isso, o EPCMSb foi exposto a uma solução contendo $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de PQ por diferentes períodos de tempo, entre 5 e 600 segundos (etapa 3). Ao término dos tempos, foram realizadas as etapas 4 e 5.

3.5.5 Estudo da influência dos parâmetros da técnica de Voltametria de Onda Quadrada (SWV)

Foram realizados estudos de otimização dos principais parâmetros da técnica de voltametria de onda quadrada, a fim de se avaliar a influência de cada um deles na resposta do eletrodo para o analito. Os parâmetros avaliados foram: frequência (5 a 130 Hz), amplitude de pulso (5 a 100 mV) e incremento de potencial (1 a 10 mV).

3.5.6 Estudo da Repetibilidade

Para o estudo de repetibilidade, foram feitas 10 medidas de SWV com a mesma superfície do EPCMSb. Foram realizadas as etapas 1 e 2 para a obtenção do EPCMSb e repetidas, por 10 vezes, as etapas 3 e 4. As correntes obtidas para cada uma das medidas foram coletadas e comparadas.

3.5.7 Estudo da Reprodutibilidade

Para o estudo da reprodutibilidade foram realizadas 10 medidas de SWV com 10 superfícies de EPCMSb diferentes. Para tanto, as etapas de 1 a 5 foram realizadas 10 vezes.

3.6 APLICAÇÃO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO

Após a otimização dos parâmetros que influenciam diretamente na resposta do eletrodo frente ao paraquat, foi possível obter o desempenho analítico do dispositivo desenvolvido, com a obtenção das figuras de mérito. Tal dispositivo foi empregado na determinação de PQ em amostras de água e de sucos de frutas cítricas (laranja e limão), fortificadas com o analito, a fim de validação do método desenvolvido.

3.6.1 Curva Analítica e Parâmetros de Mérito

Após a otimização dos parâmetros experimentais e de técnica, foi realizado o estudo da região de resposta linear do EPCMSb frente ao paraquat, com a construção de uma curva de calibração. O intervalo de concentração de paraquat avaliado foi de $1,0 \times 10^{-7}$ a $4,7 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. O procedimento foi realizado conforme descrito em 3.4, sendo que as adições crescentes e sucessivas de PQ ocorreram na etapa 3.

Com a curva de calibração foi possível obter a curva analítica bem como o desempenho analítico do método, através do cálculo dos limites de detecção e quantificação e da obtenção da sensibilidade através da equação da reta.

3.6.2 Estudos de Adição e Recuperação

Para validação do método desenvolvido, foram realizadas medidas de adição e recuperação, em 4 níveis de concentração de paraquat, descritas na TABELA 4. Todas as amostras foram fortificadas com $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de paraquat e as adições foram feitas de maneira a alcançar os mesmos níveis de concentração apresentadas na tabela.

Os resultados, em função de corrente, obtidos nos estudos de adição e recuperação foram jogados na equação da reta obtida em 3.6.1 e as concentrações obtidas foram comparadas com aquelas adicionadas inicialmente.

TABELA 4. Níveis de Concentração utilizados nos experimentos de Adição e Recuperação.

Nível	C _{PQ} / mol L ⁻¹
1	2,5 x 10 ⁻⁷
2	5,0 x 10 ⁻⁷
3	7,5 x 10 ⁻⁷
4	1,0 x 10 ⁻⁶

3.6.2.1 Amostra de Água da Torneira

Os estudos de adição e recuperação em foram realizados em amostra de água de torneira obtidas no departamento de Química da Universidade Federal do Paraná. A amostra foi fortificada com o analito, com concentração de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, e a partir dessa solução foram realizadas adições na solução de pré concentração, a fim de alcançar os níveis de concentração descritos na TABELA 4.

3.6.2.2 Amostras de Suco de Laranja e Limão

Os estudos com as amostras de suco foram realizados com duas amostras de suco de limão e duas amostras de suco de laranja. As amostras foram preparadas com a adição de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em balões de 10,0 mL completados com suco, sem a diluição em eletrólito. Para cada amostra de suco, foram realizadas adições na solução de pré concentração, a fim de alcançar os níveis de concentração descritos na TABELA 4.

3.6.3 Estudo da influência de espécies interferentes presentes nas amostras de suco

Foram realizadas medidas empregando o EPCMSb para a determinação de PQ na presença de possíveis interferentes – ácido ascórbico, citrato de sódio e sacarose – presentes na composição dos sucos de frutas cítricas, para verificar qual a influência da presença de tais espécies na resposta do sensor frente ao PQ. A concentração de paraquat foi mantida constante, em $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e foram adicionados junto a ele na solução de pré-concentração, etapa 3 do

procedimento representado pela FIGURA 16, os possíveis interferentes em três níveis de concentrações diferentes, descritas na TABELA 5.

TABELA 5. Níveis de Concentração utilizados nos estudos de espécies interferentes.

Nível	C _{INTERFERENTE} / mol L ⁻¹
1	1,0 X 10 ⁻⁵
2	1,0 x 10 ⁻⁶
3	1,0 x 10 ⁻⁷

3.7 CARACTERIZAÇÃO DO BIOCHAR

Além das caracterizações voltamétricas, a amostra de biochar empregada na construção do eletrodo foi caracterizada pelos métodos descritos a seguir.

3.7.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

O pó de biochar foi homogeneizado com KBr, previamente seco, e prensado para formar uma pastilha. Para a realização das medidas utilizou-se um espectrofotômetro BOMEN, disponibilizado no Departamento de Química. Foram feitos 64 *scans* de 4000 cm⁻¹ a 500 cm⁻¹.

3.7.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

As imagens obtidas da superfície dos eletrodos foram feitas com Microscópio Eletrônico de Varredura de Alta Resolução FEI, modelo Quanta 450, com fonte de elétrons FEG (*field emission gun*), que possui uma resolução de 1 nm. Todas as imagens foram obtidas com uma aceleração de voltagem de 20 kV e com elétrons retroespalhados. As análises químicas elementares foram realizadas por Espectroscópio de Energia Dispersiva EDAX TEAMTM, com resolução de 131 eV, sendo que os espectros foram coletados após um tempo de acumulação de 200 s e com aceleração de voltagem de 20 kV.

Para as análises de MEV e EDS, as amostras (superfícies dos eletrodos) foram inicialmente modificadas, compactadas no suporte do eletrodo e

submetidas a incorporação do antimônio, quando necessário. Em seguida, as superfícies dos eletrodos foram retiradas cuidadosamente do suporte de PVC e colocadas sobre um disco de alumínio de 32 mm de diâmetro, o qual continha uma fita dupla face de carbono, que tinha como função a fixação das amostras ao suporte metálico utilizado pelo microscópio eletrônico. Após esta fixação, o suporte contendo as superfícies dos eletrodos foi colocado no microscópio eletrônico e as amostras foram analisadas sem passar pelo processo de metalização com ouro.

3.7.3 Titulações de Boehm

Com o intuito de verificar a presença de grupamentos da superfície do biochar, bem como quantificá-los, foram realizadas titulações de Boehm.

Para tal, amostras do biochar (triplicatas) foram pesadas analiticamente, 50,0 mg em béqueres de 25 mL. Para cada uma das titulações foram adicionados volumes de 5,0 mL de soluções padronizadas de bases com diferentes forças (NaOH , Na_2CO_3 e NaHCO_3) nas amostras previamente pesadas e o sistema foi deixado sob agitação durante 24 horas. Posteriormente as amostras foram filtradas e aos filtrados de cada amostra foi adicionada alíquotas de 10,0 mL de uma solução padronizada de HCl , realizando-se em seguida uma retrotitulação potenciométrica. Nas amostras tratadas inicialmente com Na_2CO_3 e NaHCO_3 antes da adição do ácido, o filtrado foi desareado com um fluxo constante de N_2 por 5 minutos. A FIGURA 17 representa o procedimento adotado para as titulações.

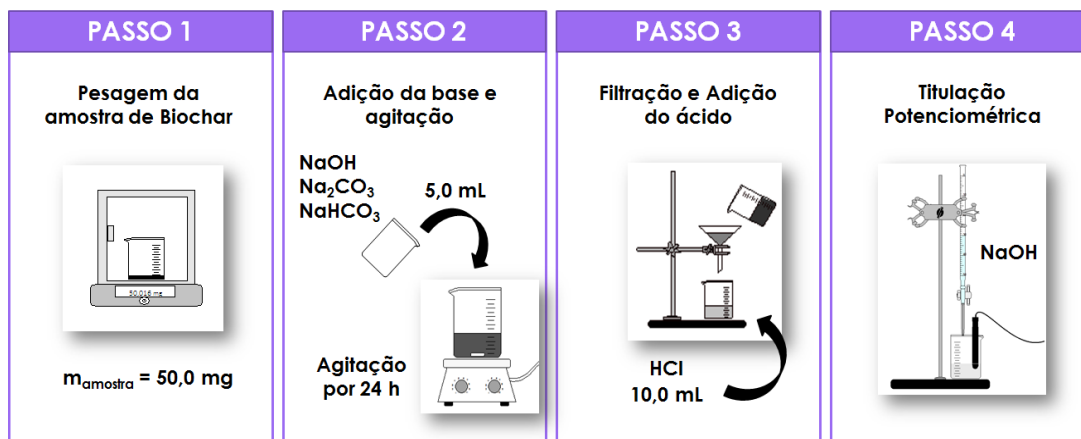


Figura 17. Procedimento realizado para as Titulações Potenciométricas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO DO ANTIMÔNIO SOBRE EPC E EPCMSB E EFEITO DA PRESENÇA DO BIOCHAR NA MODIFICAÇÃO DA PASTA DE CARBONO

A modificação da superfície eletródica tem como objetivo atribuir novas características ao eletrodo base, sendo que essas novas características são provenientes e dependentes da natureza do modificador empregado.

Para comprovar a melhora da resposta do eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar (EPCM) em relação ao eletrodo de pasta de carbono não modificado (EPC), ambos os eletrodos foram utilizados em medidas de voltametria cíclica para obter o perfil voltamétrico do antimônio nos eletrodos propostos.

Foram realizadas medidas de voltametria cíclica, no intervalo de potencial de -1,0 a 0,5 V, com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} e HCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte na presença de $8,76 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de antimônio, sendo os perfis obtidos para cada um dos eletrodos representados na FIGURA 18.

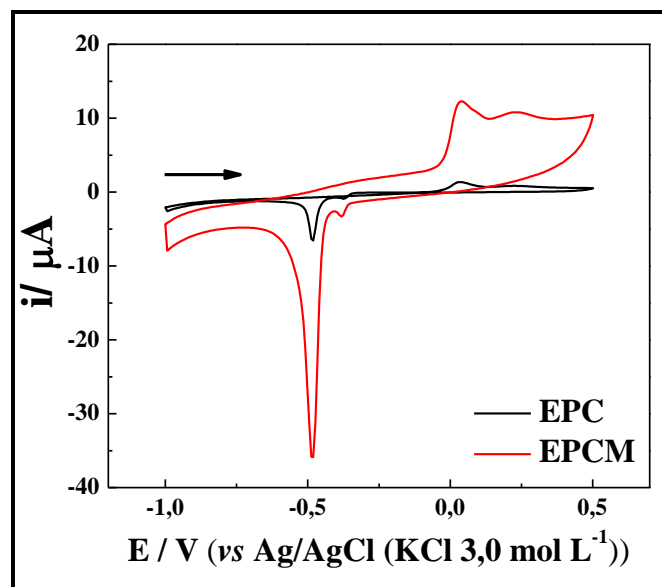
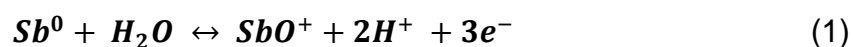


Figura 18. Perfil Voltamétrico obtido para eletrodo de pasta de carbono (**EPC**) e eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar (**EPCM**), na presença de $8,76 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Sb^{3+} . Eletrólito Suporte: $\text{HCl } 0,01 \text{ mol L}^{-1}$; Velocidade de Varredura: 100 mV s^{-1} .

As reações envolvidas no equilíbrio redox apresentado pelo antimônio, que dão origem aos processos faradâicos representados na FIGURA 18 são [64;95]:



No sentido anódico de varredura, os processos são referentes à oxidação de Sb^0 para Sb^{3+} , em +30 mV, em (1) e com o aumento de espécies oxidadas na superfície do eletrodo, depósitos de Sb_2O_3 podem ser formados, possíveis de serem visualizados na FIGURA 18 em +200 mV, passivando a superfície do eletrodo, em (2). No sentido catódico de varredura, o pico em aproximadamente -500 mV é referente a redução das espécies oxidadas de antimônio ao antimônio metálico. Tal comportamento está de acordo com o descrito por Ashrafi e Vytras [95], Toghil e colaboradores [64] e também para Moraes e colaboradores [71].

Os processos representados nos voltamogramas da FIGURA 18 são passíveis de visualização para ambos os eletrodos, porém é possível notar uma melhora discrepante na magnitude do sinal apresentado pelo eletrodo que possui o biochar em sua composição. Esta melhora é reflexo da maior interação do antimônio com os grupamentos funcionais presentes em maior quantidade e variedade na superfície do modificador. As características apresentadas pelo biochar são dependentes da forma de obtenção do material, como por exemplo,

condições experimentais (temperatura, tempo de residência, etc.) e matéria prima utilizada; tais parâmetros irão influenciar em características como porosidade e quantidade/tipo de funcionalizações presentes na superfície do carvão, que irá influenciar diretamente na interação com a espécie de interesse. [96]

A FIGURA 19 representa os espectros de FTIR obtidos para a amostra de biochar utilizada nesse trabalho, bem como do grafite em pó.

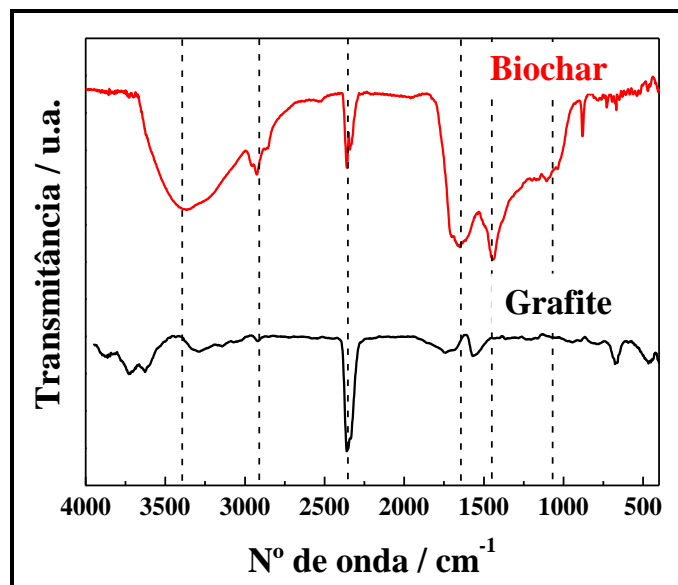


Figura 19. Espectros de infravermelho obtidos para o biochar e grafite

É possível perceber uma maior quantidade de funcionalizações presentes na superfície do biochar, quando comparada com as funcionalizações da superfície do grafite. O espectro de infravermelho obtido para o biochar apresenta bandas significativas, principalmente nas regiões em 3400 cm^{-1} , referente ao estiramento de ligações O-H presentes no biocarvão; além dessa, nas regiões de 1750 , 1450 e 1090 cm^{-1} que são referentes a estiramentos de C=O, O-H e C-O, de grupamentos fenólicos e carboxílicos, sendo estas os principais meios de interação do analito com o biocarvão. [97-99]

A identificação dos grupos funcionais é crucial para a compreensão do mecanismo que rege a interação que irá ocorrer na interface biochar/antimônio. Isso porque cada grupo funcional apresenta suas próprias habilidades de interação (coordenação) em relação aos diferentes íons metálicos, fazendo com que os mecanismos de interação com os diferentes grupos funcionais se deem

por mecanismo diferentes e, conseqüentemente, sejam mais ou menos eficientes.

A fim de investigar as funcionalizações presentes na superfície do carvão e que causam a melhora significativa do sinal, como representado na FIGURA 18, foram utilizados dois métodos para a elucidação da química envolvida na superfície do biochar, sendo eles: espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e titulação potenciométrica (método de Bohem).

4.1.1 Caracterização do Biochar por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

A espectroscopia no infravermelho é uma técnica baseada nas vibrações específicas dos átomos constituintes de uma molécula. O espectro é obtido pela passagem da radiação infravermelha através da amostra, sendo que uma fração dessa radiação incidente será absorvida. Essa energia, que representa as bandas no espectro de absorção, é correspondente à frequência de vibração ou estiramento de algum componente da amostra analisada. Os níveis de energia vibracionais dependem da força da ligação química, geometria molecular e massa atômica, e possibilitam a identificação de compostos ou a investigação da composição de uma amostra. [22]

A FIGURA 20 traz com maior detalhe o espectro de FTIR obtido para o biochar, bem como as bandas mais pronunciadas destacadas. A interpretação dos espectros de FTIR de carbonos e amostras de biochar é complicada, devido ao fato de que cada um dos diversos grupos funcionais presentes na amostra serem responsáveis por múltiplas bandas em uma gama de números de onda, de modo que cada banda obtida no espectro de FTIR pode ter a contribuição de mais de um grupo funcional, ocorrendo sobreposições e desdobramentos. [97]

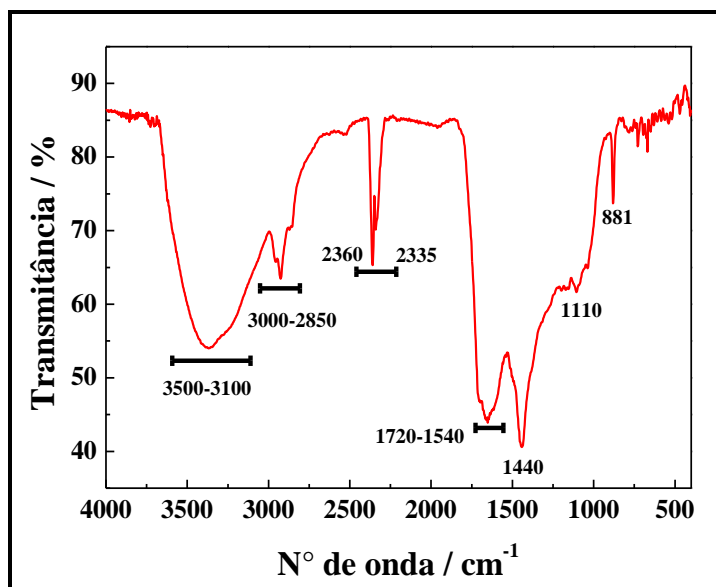


Figura 20. Espectro de FTIR obtido para amostra de biochar.

É possível observar na FIGURA 20 bandas pronunciadas e que podem ajudar na elucidação da composição química deste material. A banda entre 3500 – 3100 cm^{-1} representa o estiramento do O-H e ligações de hidrogênio intramolecular entre os grupos hidroxila [97], podendo ser atribuído a presença de grupamentos carboxílicos, lactônicos e fenólicos. A banda entre 3000 – 2850 cm^{-1} é atribuída aos estiramentos assimétrico e simétrico C-H alifático, principalmente em CH_2 [98]. A banda entre 1715 – 1550 cm^{-1} corresponde a sobreposição de estiramentos para C=O em grupos carboxílicos, cetônicos e lactônicos, COO^- em grupos carboxilatos, e ainda C=C em componentes aromáticos [99]. Além destas, observam-se bandas que representam o estiramento C=C em anéis aromáticos na região de 1440 cm^{-1} , estiramento C-O de lactonas em 1110 cm^{-1} , estiramento C-H (deformação de CH aromático fora do plano) em 880 cm^{-1} [100], além do CO_2 , originado durante a etapa de pirólise e também atmosférico, com bandas em 2360 e 2335 cm^{-1} [101].

As bandas presentes no espectro de infravermelho do biochar indicam que a conversão da biomassa (farelo de mamona) gerou majoritariamente compostos aromáticos a base de carbono, além de uma elevada concentração de grupos funcionais à base de oxigênio. Esta alta concentração de grupos funcionais é esperada para processos de pirólise em baixas temperaturas, tal como 300°C, e diminui à medida que se aumenta a temperatura, assim como descrito no trabalho de Kim e colaboradores [102]. Esse comportamento é observado pois, como descrito anteriormente, em temperaturas mais baixas, há

presença de oxigênio e hidrogênio provenientes da celulose, hemicelulose e lignina, constituintes básicos da biomassa. Com o aumento da temperatura de pirólise ocorre a presença majoritária de estruturas aromáticas e organizadas, como aquelas presentes no grafite, e uma diminuição da quantidade de funcionalizações, uma vez que ocorre a desidratação e desoxigenação da matéria

4.1.2 Caracterização do Biochar por Titulação Potenciométrica ou Método de Boehm.

A titulação potenciométrica consiste em acompanhar os vários estágios e determinar o ponto de equivalência de um processo de titulação por intermédio da medida do potencial. Neste método, o ponto estequiométrico será revelado por uma abrupta variação do potencial, o chamado “salto potenciométrico”.

O método de Boehm envolve a neutralização seletiva dos grupos ácidos presente na superfície de carbonáceos com bases de força diferenciada. A quantidade dos vários tipos de grupos ácidos é estimada, com o auxílio de cálculos envolvidos em uma retrotitulação, a partir da consideração que o NaOH neutraliza os grupos carboxílicos, lactônicos e fenólicos, o Na_2CO_3 neutraliza os grupos carboxílicos e lactônicos e o NaHCO_3 neutraliza somente os grupos carboxílicos. Tal método fornece informações qualitativas e quantitativas sobre a superfície de carbonáceos, porém, essas informações são limitadas a grupos como fenóis, lactonas e ácidos carboxílicos, funcionalidades presentes em grande quantidade na superfície do biochar, conforme relatado anteriormente e comprovado pelos espectros de FTIR da FIGURA 19. [103]

A fim de complementar a caracterização por FTIR foram realizadas titulações de Boehm para a amostra de biochar utilizada nesse trabalho, com o intuito de elucidar quais são os possíveis grupos presentes e responsáveis pelas interações que ocorrem na superfície do carvão. As curvas potenciométricas obtidas para cada uma das titulações realizadas são representadas na FIGURA 21.

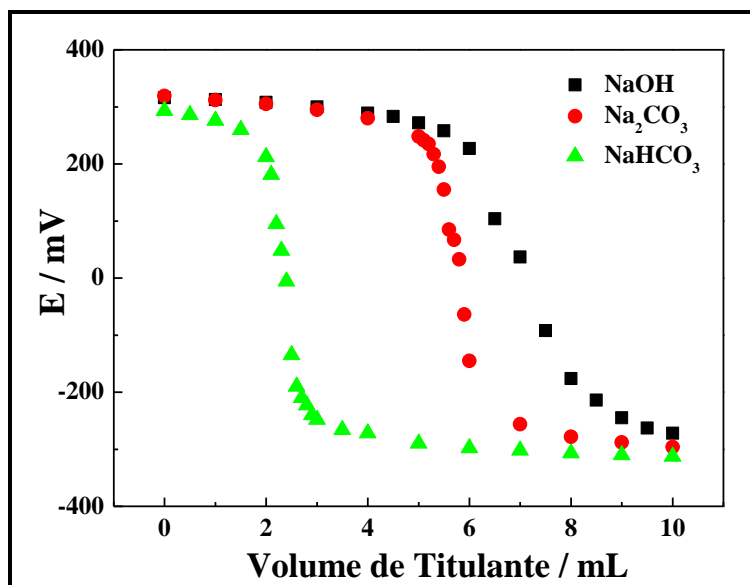


Figura 21. Curvas Potenciométricas obtidas pelo Método de Boehm aplicado a amostra de biochar.

As curvas potenciométricas obtidas pelas titulações, como as demonstradas na FIGURA 21, são compostas por três segmentos que correspondem a três etapas do procedimento: antes do ponto de equivalência, no ponto de equivalência e após o ponto de equivalência. No primeiro segmento há o excesso do titulado (no caso das titulações realizadas nesse trabalho, HCl), sendo a variação de potencial observada relacionada com o consumo do titulado pelo titulante. A variação brusca de potencial que ocorre é o segundo segmento, no qual é possível localizar o ponto de equivalência da titulação. Já no terceiro segmento, a variação de potencial é relacionada apenas às adições do excesso do titulante (NaOH, neste caso), uma vez que todo o produto já foi consumido.

Sendo assim, o segmento da curva potenciométrica de maior importância é o segundo, onde há o chamado salto potenciométrico e partir dele chega-se ao volume de equivalência da titulação. Pelo menos dois métodos podem ser utilizados para a determinação do ponto final da titulação potenciométrica. O mais simples deles é dado pela estimativa visual, onde se avalia qual o volume que corresponde à metade da altura obtida no salto potenciométrico, sendo esse valor estimado de volume, o final da titulação.

Outra abordagem para a determinação do ponto final é a utilização de cálculos matemáticos, onde calcula-se a variação de potencial por unidade de titulante consumido, ou seja, calcula-se a primeira derivada numérica da curva

potenciométrica obtida pelo experimento realizado. Sendo assim, a partir das curvas potenciométricas, apresentadas na FIGURA 21, é possível obter as primeiras derivadas representadas na FIGURA 22. Os gráficos de primeira derivada, são em função dos volumes médios utilizados no procedimento e produzem curvas com inflexões que são correspondentes ao volume de equivalência das titulações realizadas.

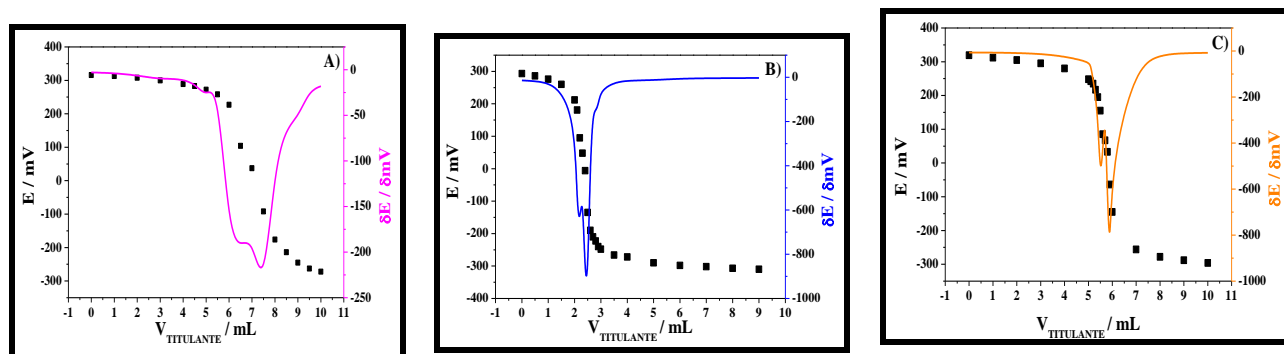


Figura 22. Curvas titulométricas e primeira derivada para: A) titulação com NaOH, B) titulação com NaHCO_3 e C) titulação com Na_2CO_3 .

De acordo com a acidez apresentada pelo grupo, ocorrerá ou não a neutralização dele pela adição da base, com diferentes forças. O grupamento que apresenta maior acidez é o carboxílico, seguido do lactônico e por último o fenólico. Para as bases, a mais forte é o NaOH, seguido pelo Na_2CO_3 e como mais fraca o NaHCO_3 . [103]

Seguindo o raciocínio, a amostra preparada com bicarbonato de sódio irá ter apenas os grupamentos carboxílicos neutralizados, sendo possível sua quantificação direta a partir do volume gasto na titulação do HCl em excesso pelo NaOH e cálculos de retrotitulação. Quando o carbonato de sódio é empregado no preparo da amostra, é alcançada a neutralização dos grupamentos carboxílicos e lactônicos, sendo possível quantificar o último pela diferença de valores obtidas nas titulações das amostras tratadas com NaHCO_3 e Na_2CO_3 . Já na amostra tratada com o hidróxido de sódio ocorre a neutralização de todos os grupamentos ácidos presentes na superfície do biochar, sendo assim, é possível encontrar a quantidade de grupamentos fenólicos pela subtração das quantidades obtidas pela titulação das amostras tratadas com o Na_2CO_3 . A TABELA 6 traz os valores obtidos para cada um dos grupos em mmol equivalentes, referente ao grupo funcional por grama do biocarvão (mEq/g). [103]

TABELA 6. Quantificação dos grupos superficiais ácidos do Biochar pelo Método de Boehm.

	Total	Carboxílicos	Lactônicos	Fenólicos
mEq / g	4,8	1,6	0,43	2,8

De acordo com Novack e colaboradores [104] a quantidade de grupos ácidos é influenciada diretamente pela matéria-prima utilizada para a produção do biochar, e também pela temperatura de pirólise. Eles descrevem, de acordo com os estudos realizados, que há uma tendência de grupamentos ácidos em maiores quantidades quando a temperatura de pirólise é mais baixa. Por exemplo, para uma mesma biomassa (noz pecan) eles obtiveram valores de grupos ácidos totais de 2,5 mEq/g, para biochar pirolisado em 350° C, e para temperatura de pirólise de 700° C esses grupos já não são observados. Já Al-Wabel e colaboradores [105] relataram a mesma tendência descrita por Novack [104], obtendo uma quantidade total de grupos ácidos de 4,2 mEq/g para amostras pirolisadas a temperatura de 200°C, 1,5 mEq/g para temperatura de pirólise de 400° C e 0,2 mEq/g em amostras pirolisadas a 800° C. Tais valores são concordantes com o obtido neste trabalho, de 4,8 mEq/g, sendo que a variação entre os valores é atribuída a diferença das matérias primas (biomassa) e de temperatura de pirólise utilizadas no procedimento de obtenção do biochar.

A presença de tais funcionalizações é muito importante e influencia diretamente nos mecanismos de interação entre o biochar e os íons inorgânicos, como o Sb(III). De acordo com os mecanismos propostos por Ahmad [81], representados pela FIGURA 13, as principais interações sugeridas são por troca catiônica, onde ocorre a liberação de cátions ligados aos grupos funcionais ou óxidos minerais presentes no biochar, deixando uma lacuna, que pode ser ocupada pelo antimônio. Pode ocorrer ainda interação catiônica, onde o metal com carga positiva, Sb^{3+} , interage com grupos aniônicos presentes no carvão, como os quantificados pelo método de Boehm e ainda por complexação por grupos livres do biochar ou adsorção física.

4.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO SOBRE O INTERVALO DE POTENCIAL CAUSADO PELA PRESENÇA DO ANTIMÔNIO NA SUPERFÍCIE DO EPCM

Umas das principais características que torna o antimônio um atraente substituto para o eletrodo de mercúrio diz respeito ao elevado sobrepotencial para a redução da água e consequente formação de hidrogênio gasoso; essa é uma característica observada tanto para o mercúrio, como para o bismuto. [59;64] Esse fenômeno é atribuído ao envenenamento da superfície do eletrodo por diferentes espécies formadas pelo metal constituinte de cada eletrodo (como a formação de óxidos, hidróxido, etc.), que passivam a superfície eletródica tornando a formação de hidrogênio mais difícil, porém sem afetar os processos para outros compostos. [106]

A principal consequência atribuída a tal característica é a possibilidade de trabalhar em regiões de potencial com valores bastante negativos, sem que ocorra a interferência do sinal do produto de decomposição da água no sinal do analito. Em geral, há um maior intervalo útil de potencial no sentido catódico de varredura.

Dessa maneira, um estudo foi realizado a fim de verificar a influência da presença do antimônio sobre o intervalo útil de potencial alcançado e comparar com aquele obtido para um eletrodo de mesma composição, mas na ausência do modificador. Para isso, um EPCM e um EPCMSb foram submetidos a varreduras de potencial no sentido catódico para varreduras iniciando-se em -0,5 V até -1,5 V.

A descarga de corrente referente a formação de hidrogênio é bem menos pronunciada para o eletrodo no qual o antimônio está presente, conforme demonstrado pelos voltamogramas da FIGURA 23A. Quando se limita a corrente da descarga obtida para o eletrodo contendo antimônio, é possível quantificar o ganho de potencial útil negativo, conforme demonstrado na FIGURA 23B.

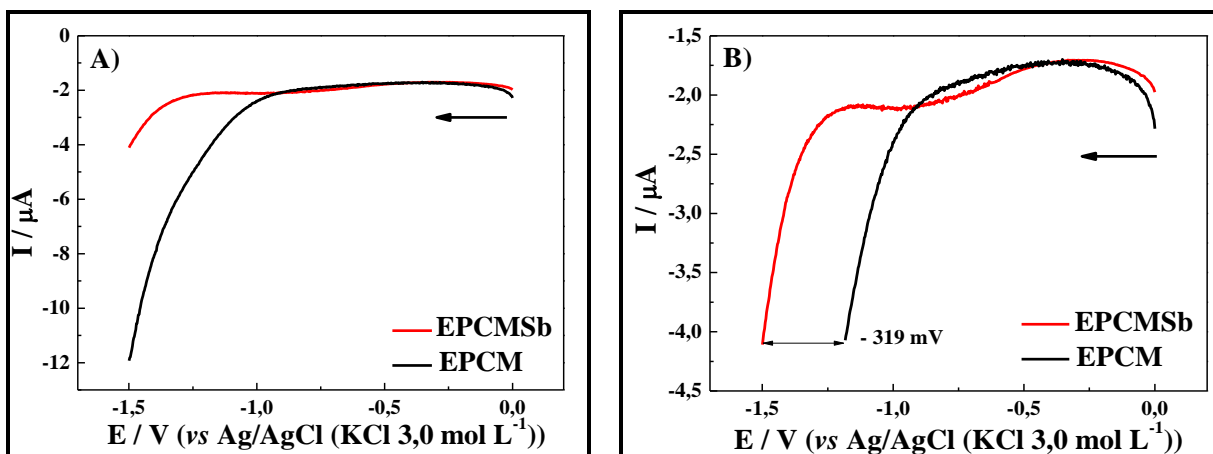


Figura 23. Voltamogramas obtidos para Varredura Catódica de 0,0 a -1,5 V. A) sem limite de corrente e B) limitando a corrente de em 4,11 μA .

Em estudo realizado por Jovanovski e colaboradores [107], diferentes eletrodos preparados *ex situ* tiveram seu desempenho, em relação ao sobrepotencial para a formação de hidrogênio, comparado com um eletrodo de mercúrio preparado de maneira semelhante. A partir da FIGURA 24 é possível observar que os eletrodos de antimônio (b) e bismuto (c) têm comportamento bastante semelhante com aquele obtido para o eletrodo de mercúrio em (a), sendo o desempenho apresentado pelo eletrodo de carbono vítreo, representado em (d), bastante inferior.

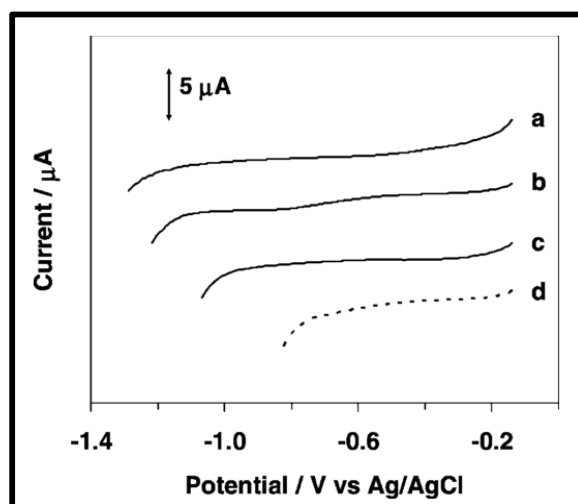


Figura 24. Voltamogramas de varredura linear para a comparação dos intervalos de potencial obtidos para eletrodo de filme de mercúrio (a), filme de antimônio (b), filme de bismuto (c) formados *ex situ* e eletrodo de carbono vítreo (d). Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} em $\text{HCl } 0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

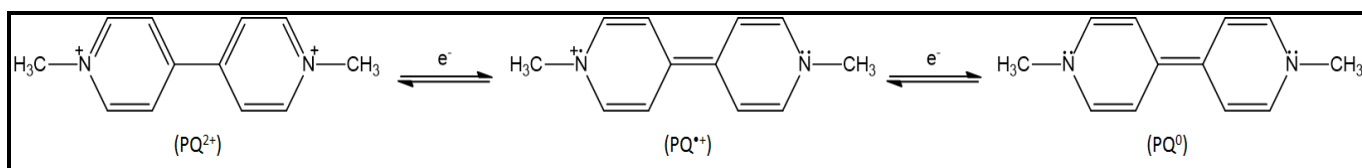
O comportamento obtido para o EPCMSb, demonstrado na FIGURA 23, condiz com aquele esperado para eletrodos da classe dos *Mercury Free*, bem como aquele descrito por Jovanovski e colaboradores [107].

Sendo assim, o ganho de potencial de 319 mV empregando o eletrodo de antimônio é bastante vantajoso do ponto de vista operacional, quando há necessidade de determinação de espécies cujos potenciais redox são em valores muito negativos, como ocorre com o paraquat, cujos eletrodos normalmente empregados, Au e Pt por exemplo, podem não conseguir alcançar sem que ocorra a interferência do sinal da formação do hidrogênio gasoso no sinal voltamétrico da espécie de interesse.

4.3 COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO DO PARAQUAT UTILIZANDO O EPCMSB

Mesmo sendo uma espécie bastante difundida na literatura, que tem seu perfil voltamétrico conhecido empregando-se diferentes eletrodos de trabalho [18-20], é importante saber qual o comportamento do PQ obtido sobre o dispositivo construído neste trabalho, uma vez que, para cada eletrodo podem-se obter respostas condizentes, porém com algumas diferenças inerentes das características de cada eletrodo.

De maneira geral, a resposta voltamétrica do paraquat apresenta dois picos de redução com características totalmente reversíveis, como descrevem De Souza e Machado [20]. O primeiro pico em aproximadamente -0,7 V (vs Ag/AgCl) é associado à redução eletroquímica da molécula na interface eletrodo-solução ($PQ^{2+} \rightarrow PQ^+$) seguido de um segundo pico em aproximadamente -1,2 V (vs Ag/AgCl) relacionado à redução de espécies adsorvidas à superfície do eletrodo ($PQ^+ \rightarrow PQ^0$). O ESQUEMA 1 representa as reações.



Esquema 1. Reações envolvidas na redução do Paraquat.

A fim de verificar qual comportamento do herbicida sobre o EPCMSb, medidas de voltametria de onda quadrada foram realizadas. O voltamograma de onda quadrada foi obtido seguindo as etapas do procedimento descrito anteriormente e representados na FIGURA 16. A concentração de PQ contida na solução de pré-concentração foi de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão acetato pH ajustado em 6,0. A FIGURA 25A apresenta o voltamograma obtido e o voltamograma da FIGURA 25B demonstra o voltamograma resultante bem como as componentes das reações direta e reversa.

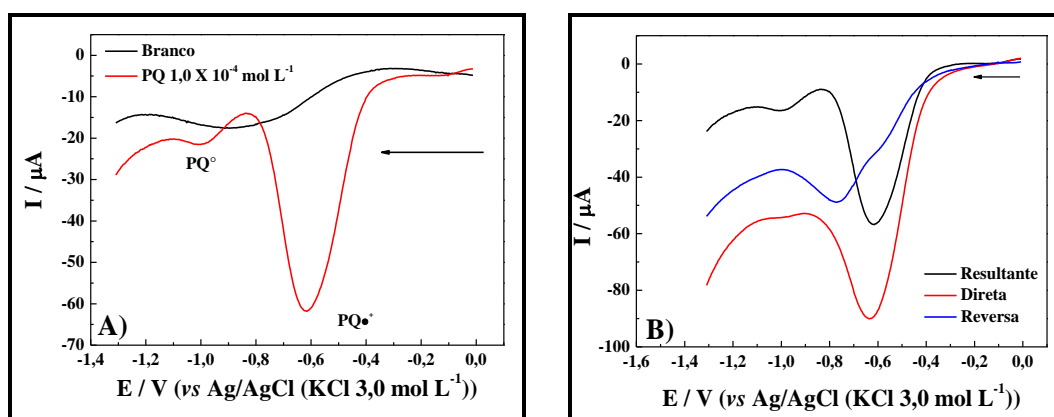


Figura 25. A) Voltamograma de Onda Quadrada obtido para EPCMSb na presença de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat. B) Voltamograma de Onda Quadrada resultante, componente direta e componente reversa. $f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 4 \text{ mV}$.

É possível perceber, que assim como descrito por De Souza e Machado [20], e pela análise dos voltamogramas de cada uma das componentes das reações no sentido direto e reverso é possível observar no sistema proposto que as reações do paraquat não são reversíveis. De acordo com a teoria da SWV [23], o voltamograma resultante é a somatória das correntes obtidas para as reações diretas e reversas. Quando em um processo reversível, o somatório dessas correntes gera um acréscimo na corrente resultante. Para um sistema irreversível, o somatório das correntes de cada uma resultante acaba gerando um decréscimo da corrente resultante, conforme pode ser observado no voltamograma da FIGURA 25B.

Qualquer uma das etapas pode ser utilizada para a determinação do analito em posteriores amostras avaliadas, porém, para os estudos futuros será considerado apenas o pico referente à redução do cátion PQ^{2+} . Como já descrito na literatura, reações de coproporcionamento e desproporcionamento podem ocorrer, envolvendo a espécie PQ^{+} , ou ainda a formação de um filme na

superfície do eletrodo composto pela forma totalmente reduzida do herbicida; tais fenômenos acarretam em uma resposta pouco linear e reprodutível o que não é interessante na determinação. [108-109]

4.4 COMPARAÇÃO ENTRE DIFERENTES ELETRODOS

A adição de biochar a pasta de carbono tem por objetivo melhorar a pré-concentração de PQ na superfície dos eletrodos e a adição de antimônio visa um aumento na resposta voltamétrica para a determinação de paraquat. Após a realização de diversos estudos de otimização dos parâmetros analíticos foi possível comparar o dispositivo desenvolvido nesse trabalho com outros dispositivos comumente empregando na eletroanalítica.

Para isso, 5 eletrodos foram construídos: eletrodo de pasta de carbono modificado com carvão ativado (EPCCA), eletrodo de pasta de carbono (EPC), eletrodo de pasta de carbono modificado com antimônio (EPCSb), eletrodo de pasta de carbono modificada com biochar (EPCM) e eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar e antimônio ancorado (EPCMSb); tais dispositivos foram expostos ao paraquat, $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em condição de circuito aberto, durante 2 minutos, e depois submetidos à varredura de onda quadrada, com frequência de 100 Hz, amplitude de pulso de 50 mV e incremento de potencial de 4 mV. Os voltamogramas obtidos estão representados na FIGURA 26.

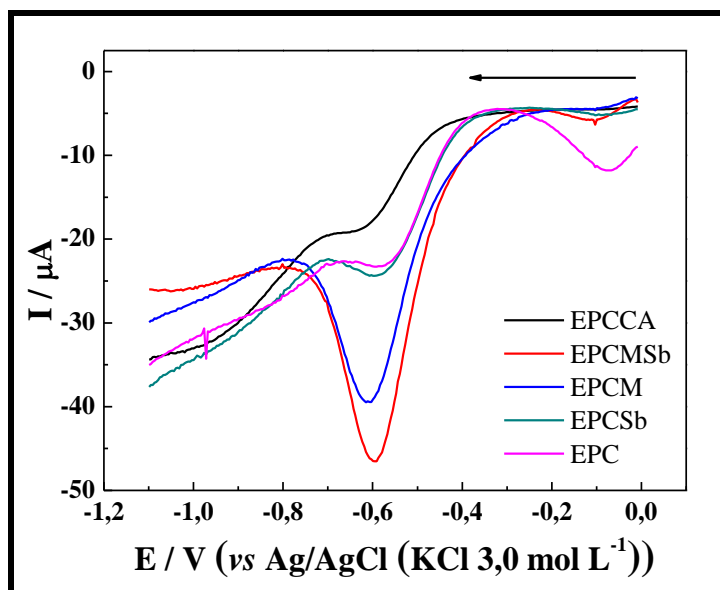


Figura 26. Voltamogramas de Onda Quadrada obtidos para os diferentes eletrodos: eletrodo de pasta de carbono modificado com carvão ativado (**EPCCA**); eletrodo de pasta de carbono (**EPC**); eletrodo de pasta de carbono modificado com antimônio (**EPCMSb**) eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar (**EPCM**); eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar e antimônio (**EPCMSb**). $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $t_{ADS} = 120 \text{ s}$; $f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 4 \text{ mV}$.

Os resultados obtidos para os eletrodos, principalmente para aquele que contem biochar e antimônio, estão de acordo com os comportamentos apresentados nos estudos discutidos anteriormente. A fim de melhor visualizar o ganho, em relação à corrente alcançada para o PQ, a FIGURA 27 traz a comparação em barras entre as correntes obtidas para cada um dos voltamogramas apresentados na figura anterior.

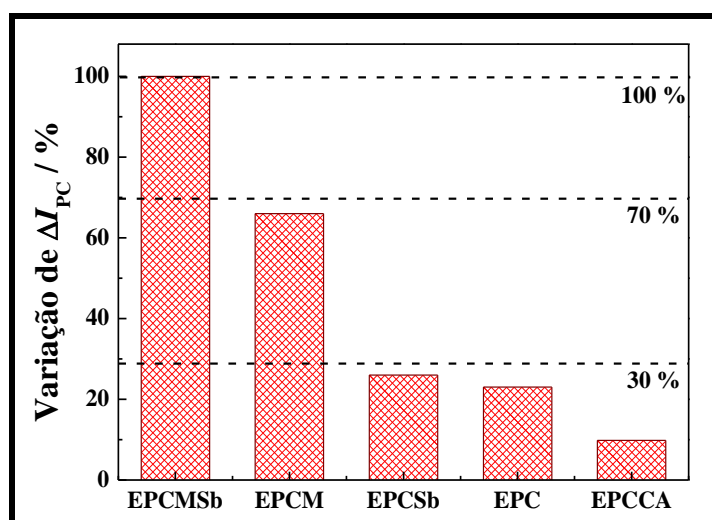


Figura 27. Gráfico de comparação entre as variações de correntes obtidas pelos diferentes eletrodos, a partir dos voltamogramas da FIGURA 26.

É possível perceber pela comparação entre as correntes demonstradas na figura anterior, que ambos os eletrodos que contém biochar na composição da pasta de carbono obtiveram uma melhor resposta para o PQ. Fica evidente pelo gráfico da FIGURA 27 que as respostas apresentadas pelos eletrodos de pasta sem modificação pelo biochar é muito inferior aquelas obtidas para os eletrodos modificados com o biochar, o que pode ser explicado pela maior capacidade de adsorção do herbicida devido à elevada quantidade de funcionalizações na superfície do biocarvão, o que acarreta uma amplificação do sinal.

Isso se deve ao fato de que a pré-concentração é feita em circuito aberto, ou seja, as interações ocorrem de maneira espontânea entre o herbicida e a superfície do eletrodo. Novamente, as funcionalizações do biochar são fatores determinantes para o melhor desempenho do dispositivo. Com base na FIGURA 14 disposta na seção 1.4, é possível inferir sobre mecanismos de interação entre o PQ e o biochar presente no EPCMSb e EPCM.

O PQ quando em solução aquosa é uma molécula catiônica e altamente polar. Sendo assim, os principais mecanismos de interação são: **I)** interação eletrostática, uma vez que a maior parte da superfície do biochar apresenta carga negativa nas condições avaliadas [81]; **II)** interações polares entre o herbicida e grupos polares presentes no carvão, como carboxilas e fenóis, onde o analito irá interagir com os H das ligações O-H de tais grupos [81]; **III)** adsorção física ou partição do paraquat na superfície do biochar, devido a elevada porosidade do biocarvão, pelo simples contato das duas espécies.

Outro comportamento que pode ser observado, com maior discrepância entre EPCMSb e EPCM, e, em menor diferença, também presente entre EPCsb e EPC, é o fato de que ambos os eletrodos que contém o semi-metal em sua superfície apresentaram uma melhor resposta para o paraquat quando comparadas com aquelas apresentadas por EPCM e EPC.

Como já discutido anteriormente, muitos trabalhos publicados na literatura empregam eletrodos de antimônio para a determinação de espécies metálicas, e se sabe que a melhora do desempenho do dispositivo é atribuída a formação de intermetálicos entre o constituinte do eletrodo e o analito, assim como ocorrem com Hg e Bi. Porém, poucos trabalhos da literatura empregam um dispositivo de antimônio para a determinação de espécies orgânicas e por

esse motivo não se sabe ao certo qual o mecanismo responsável pela melhora de sinal observada, além da melhora em termos de intervalo útil de potencial que possibilita análises em regiões de potencial negativa sem que ocorra a interferência do sinal de formação de hidrogênio no sinal do analito, quando tal elemento está presente.

Sendo assim, a fim de elucidar qual mecanismo pode estar envolvido na melhora de resposta apresentada pelo sistema proposto, foram realizadas medidas de MEV para descobrir qual a estrutura que o semi-metal está presente na superfície do EPCM^{Sb} e que possa explicar tal melhora de resposta.

4.4.1 Análises Morfológicas por MEV

Para visualizar as características morfológicas do biochar e a distribuição do Sb(III) incorporado na superfície dos eletrodos e tentar encontrar alguma correlação entre o perfil morfológico da superfície e a melhora na resposta voltamétrica, análises de MEV foram realizadas no EPCMSb. As análises foram feitas com elétrons retroespalhados, pois neste modo a diferença de contraste nas imagens indica também diferença na composição química, sendo que quanto maior a massa atômica do elemento, mais claro este aparecerá na imagem. Esta característica é extremamente útil para a visualização de íons pesados como o Sb(III). As análises de MEV foram feitas sobre partículas de biochar presentes na superfície de dois eletrodos: um EPCM e um EPCMSb, e as micrografias obtidas para estas análises estão dispostas na FIGURA 28.

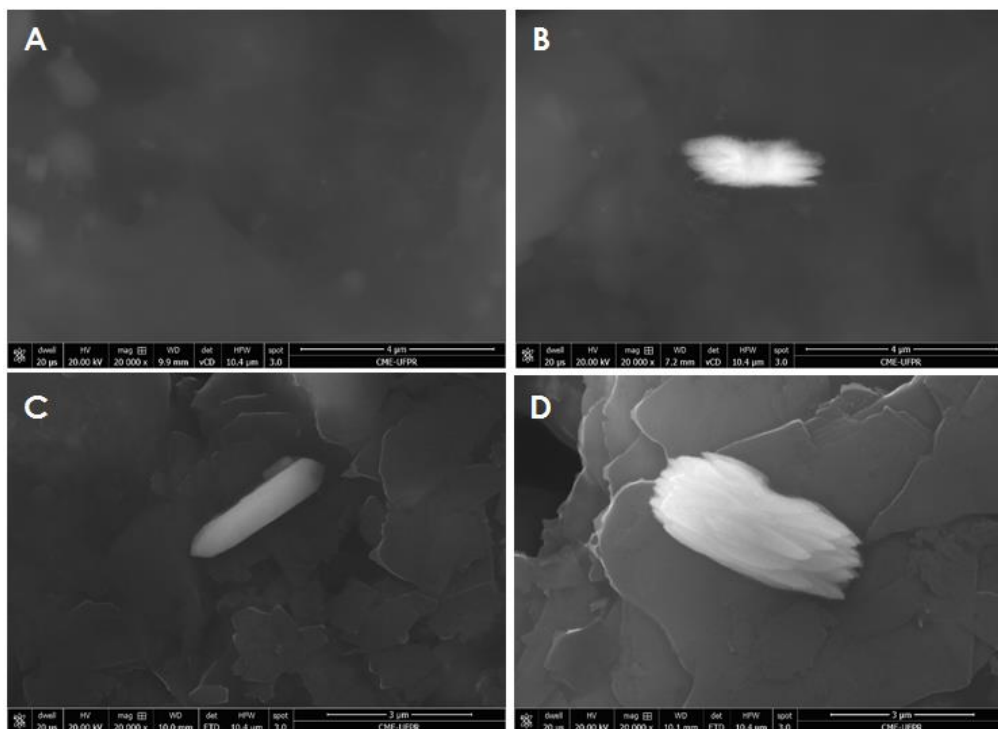


Figura 28. Imagens de MEV representativas da superfície do A) EPCM e B,C e D) EPCMSb

Nas micrografias acima é possível perceber a presença de microestruturas de antimônio, representadas por B, C e D como partículas mais claras que o fundo da imagem, uma vez que o antimônio tem um peso atômico maior que o carbono (principal constituinte do eletrodo) de modo que o metal difrata mais elétrons, sendo possível assim identificar o antimônio sobre a superfície do EPCMSb, as quais estão dispersas pela superfície do EPCMSb e não são possíveis de serem visualizadas na superfície do EPCM, representado em A.

As micrografias sugerem, que ao contrário do que se propunha, não ocorre a formação de um filme fino que recobre toda a superfície do eletrodo, como normalmente descrito na literatura, mas sim a formação de estruturas que podem atuar como “microeletrodos”, que possivelmente são os responsáveis pela resposta superior do EPCMSb em relação aos outros dispositivos testados, sendo que a resposta final apresentada pelo eletrodo é resultado da somatória de várias reações acontecendo ao mesmo tempo sobre cada “microeletrodo”, propiciando o incremento de corrente observado.

Tal comportamento, a não formação de um filme, também foi verificado por Toghiani e colaboradores [64]. O dispositivo desenvolvido pelos autores é baseado na formação *ex situ* de um filme de antimônio sobre um substrato de diamante dopado com boro. Porém, após experimentos de voltametria linear

para quantificar o antimônio aparente na superfície do eletrodo, eles observaram uma quantidade de antimônio calculada, 2,7 ng, cerca de 10 vezes menor do que a quantidade teórica necessária para a formação de um filme de antimônio, sugerindo assim a formação de estruturas dispersas, de tamanho reduzido.

Pode-se sugerir então, de maneira semelhante ao que ocorre na superfície das nanogotas de mercúrio ancoradas em biochar descrita por Oliveira e colaboradores [91], a redução do paraquat, fortemente pré-concentrado em toda a superfície do EPCMSb devido à presença do biochar, facilitada, maximizada e pontual sobre cada uma das microestruturas do antimônio, e cada resposta obtida para esse “microeletrodo” é somada resultando em uma corrente de magnitude superior àquela obtida para os outros eletrodos.

4.4.2 Análise Química Elementar

Medidas de EDS fornecem informações a respeito da composição química elementar das amostras analisadas. Esta técnica se baseia na incidência de um feixe de elétrons na amostra, o que promove a excitação dos elétrons das camadas internas e a geração de raios-X característicos de cada elemento. Análises de EDS foram feitas no EPCM e EPCMSb com o objetivo de caracterizar os elementos que compõe o biochar, confirmar a presença de antimônio após a incorporação na superfície dos eletrodos.

A FIGURA 29 traz os espectros de EDS obtidos para o EPCM e EPCMSb.

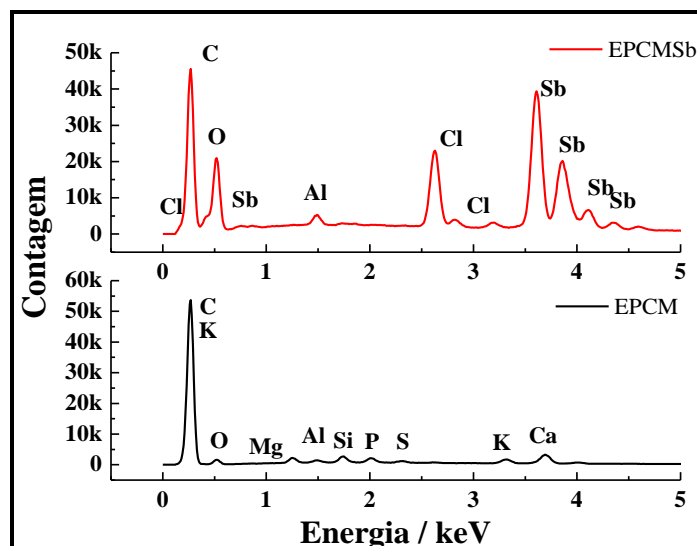


Figura 29. Espectros de EDS referentes ao EPCMSb e EPCM.

A análise de EDS para o EPCM (em preto), apresentou os elementos constituinte do biochar, com uma grande concentração de C, devido a matéria-prima do qual foi produzido, além de porções de O, Mg, Al, Si, P, K e Ca; e ainda uma pequena quantidade de Fe não referenciado no espectro de EDS.

A análise numa superfície de EPCMSb (em vermelho) comprovou a presença de antimônio na superfície do eletrodo, com picos característicos de Sb, entre 3,40 e 4,50 keV, atribuídos a diferentes linhas de emissão do semi-metal.

4.5 ESTUDOS DE OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS ENVOLVIDOS NA METODOLOGIA PROPOSTA

O procedimento proposto neste trabalho para a determinação de paraquat utilizando-se de um eletrodo de antimônio ancorado em biochar, leva em consideração a interação deste dispositivo com o herbicida de acordo com as características apresentadas pelos materiais que compõem o EPCMSb e discutidas anteriormente. Para a maximização da resposta diversos parâmetros necessitam ser otimizados. Abaixo são listados os principais estudos realizados na otimização do sensor proposto.

4.5.1 Estudo da Influência do Eletrólito Suporte

Uma das desvantagens de se utilizar eletrodos de antimônio é a limitação desse eletrodo em relação à sua utilização em meios brandos, ou seja, em soluções com valores de pH superiores a 2. Isso é explicado com base nas reações que envolvem a oxirredução desse metal, exemplificadas pelas equações (1) e (2) anteriormente relatadas, onde é necessário a presença de íons H^+ . Em valores de pH elevados, há formação de espécies hidrolisáveis de antimônio, que interferem na formação de um filme homogêneo, o que não é interessante para a eletroanálise.

Tal inconveniente é mais evidente, quando o eletrodo de antimônio é formado *in situ*, ou seja, os íons metálicos estão presentes na célula eletroquímica e o filme metálico é formado sobre o eletrodo base com a aplicação prévia de um potencial, seguido da varredura eletroquímica. Para contornar tal limitação, a utilização de eletrodos construídos *ex situ* é uma alternativa bastante atrativa. Isso porque o eletrodo base é exposto aos íons metálicos que se encontram em uma solução a parte da solução da célula eletroquímica, não sendo afetada pelo pH da mesma. O eletrodo *ex situ* pode ser formado com a aplicação de um potencial elétrico ou apenas por interação espontânea entre o metal e o substrato, que é o caso do dispositivo proposto. [65;70;107]

Sendo assim, para o desenvolvimento deste método foi possível utilizar durante os procedimentos voltamétricos eletrólitos suporte à base de soluções tampão. Foram testadas soluções de tampão fosfato e acetato, ambos em pH ajustado para 4,5, as quais foram utilizadas para a composição da solução de pré-concentração (solução onde o analito é adicionado) e da solução de leitura (solução da célula eletroquímica).

Foram realizadas medidas de redissolução por SWV, com frequência de 25 Hz, amplitude de pulso de 50 mV e incremento de potencial de 5 mV. O tempo de pré-concentração do herbicida foi de 300 segundos (ETAPA 3, FIGURA 16) e o tempo de incorporação do antimônio foi de 120 segundos (ETAPA 1, FIGURA 16). Para o estudo da solução de pré-concentração, foi fixada a composição da solução de leitura e a composição da solução de pré-concentração foi variada entre tampão acetato e tampão fosfato. No estudo da solução de leitura a mesma metodologia foi adotada. Os resultados alcançados para o estudo do eletrólito

suporte são demonstrados na FIGURA 30, que apresenta os voltamogramas de onda quadrada obtidos para o EPCMSb para ambos os estudos.

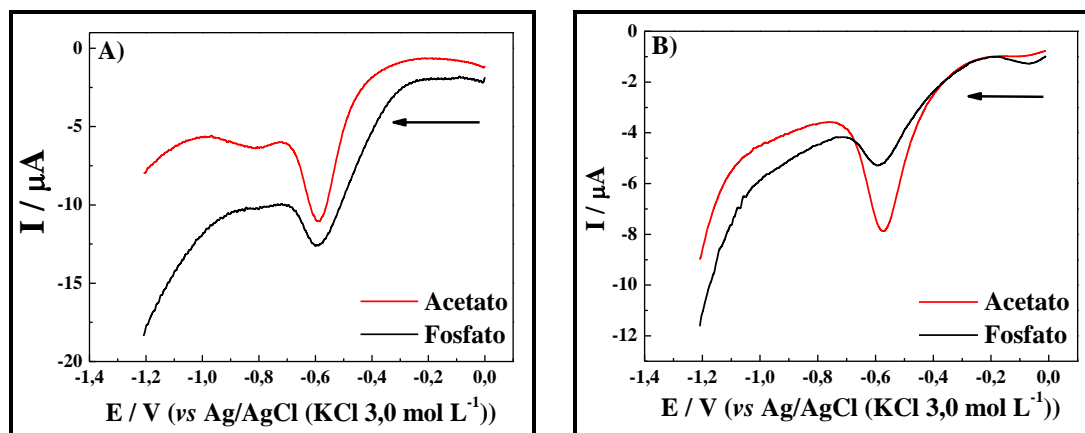


Figura 30. Voltamogramas de Onda Quadrada obtidos para a escolha do Eletrólito da Solução de A) Pré concentração e B) Leitura. $C_{PQ}=1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $t_{ADS} = 300 \text{ s}$; $f = 25 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 5 \text{ mV}$.

A partir dos voltamogramas acima, é possível observar uma melhor condição para a redução do paraquat em meio de tampão acetato, que apresenta um perfil voltamétrico com o processo faradáico mais definido, para ambas as soluções de trabalho. É possível visualizar, para os voltamogramas obtidos em tampão fosfato, que a descarga de corrente referente à formação do hidrogênio é mais pronunciada e causa maior influência no perfil voltamétrico do PQ nesse meio, do que para o tampão acetato, ocasionando uma distorção e menor definição dos picos. Sendo assim, foi escolhido como eletrólito suporte o tampão acetato.

4.5.2 Estudo da Influência da variação do pH do Eletrólito Suporte

O valor do pH da solução muitas vezes tem um efeito significativo nas características de adsorção dos carvões. Quando o material contendo átomos de carbono é submerso em água, ele desenvolve sobre sua superfície uma carga proveniente da dissociação de grupos funcionais superficiais. Esta carga superficial também é dependente do valor do pH do meio e das características da superfície do carvão. A carga apresentada pelo carvão também está relacionada com os valores de pKa apresentados pelos grupamentos

superficiais, sendo que em $\text{pH} > \text{pKa}$ eles se apresentam desprotonados e em $\text{pH} < \text{pKa}$ eles estão na forma protonada. [110]

Para os grupamentos ácidos possíveis de serem identificados pelas titulações de Boehm, os ácidos carboxílicos apresentam $\text{pKa} < 5,0$, e os grupamentos fenólicos e lactônicos $\text{pKa} > 10,0$.

Dessa maneira, um estudo foi realizado a fim de verificar qual a influência exercida sobre a resposta do sensor quando há variação do pH das soluções que compõem as soluções de leitura e pré-concentração.

Primeiramente foi realizado o estudo do pH para a solução de pré-concentração; para isso fixou-se o pH da solução de leitura em 4,5 e o EPCMSb foi exposto a soluções do tampão acetato contendo sempre $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de PQ mas com diferentes valores de pH, ajustados numa faixa de 3 a 6, e soluções de ácido acético e acetato de sódio para valores de pH 2,0 e 7,0, respectivamente. Com o melhor pH para a solução de pré-concentração definido, foi feito o estudo do pH da solução de leitura, onde o EPCMSb foi exposto ao paraquat, com a solução de pré-concentração escolhida, e levado a célula eletroquímica para as varreduras de onda quadrada, variando-se nesse momento as soluções de leitura com os diferentes valores de pH, descritas anteriormente. Os resultados obtidos, em função de corrente, são apresentados na FIGURA 31.

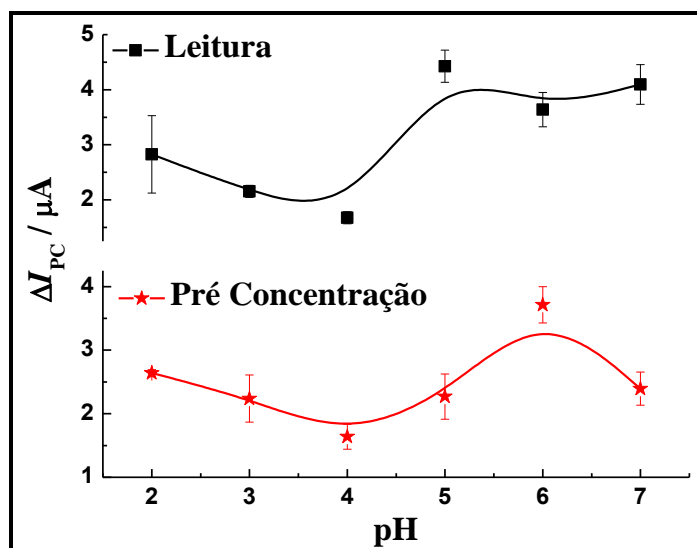


Figura 31. Estudo da Variação do pH da solução de leitura e da solução de pré concentração. $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $t_{ADS} = 300 \text{ s}$; $f = 25 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 5 \text{ mV}$.

É conhecido também que as reações de oxirredução do paraquat são independentes do pH, como pode ser observado no ESQUEMA 1. Portanto, os fenômenos que ocorrem em função do pH estão associados ao biochar e possivelmente ao antimônio.

Os resultados obtidos para a solução de pré-concentração (★) mostram que um máximo de corrente é obtido em valor de pH=6,0, com um decréscimo da corrente para valores superiores. Em tal pH os grupos carboxílicos estão em sua forma desprotonada, aumentando a quantidade de cargas negativas na superfície do biochar, e conseqüentemente aumentando a capacidade de adsorção do herbicida. A diminuição da resposta para valores de pH superiores a 6,0 pode ser atribuída à repulsão eletrostática entre a superfície carregada positivamente pela presença do PQ e o PQ presente em solução, disponível para ser adsorvido, não sendo influenciada pelo valor de pH do meio. Tal comportamento também foi observado por Tsai e Chen, em um estudo sobre a cinética de adsorção do PQ em biochar obtido a partir de estrume de porco. [111]

Levando em consideração a elevada quantidade de grupos carboxílicos revelada pelas titulações de Boehm, e que no valor de pH utilizado tais grupos estão em sua maioria desprotonados ($pK_a < 5,0$), pode-se sugerir que estes grupamentos podem ser os responsáveis pelas interações que acontecem na superfície do biochar. [112]

Em relação à solução de leitura (■) é possível perceber o máximo de corrente em pH = 5,0, e concomitantemente um melhor perfil voltamétrico foi obtido para esse pH. De acordo com as reações envolvidas para o antimônio (1) e (2), prótons estão envolvidos nas reações do elemento, então em meios mais ácidos essa redução é mais efetiva. Porém, meios muito ácidos não são favoráveis para o biochar, uma vez que pode ocorrer a competição entre os íons H^+ componentes do eletrólito e os íons PQ^{2+} pela superfície do carvão, decaindo a resposta referente ao analito. Dessa maneira, o pH = 5,0 se apresentou bom para ambas as situações e foi escolhido para as demais etapas.

4.5.3 Estudo da Quantidade de Modificador na Pasta

O biochar é o modificador que confere ao eletrodo a capacidade de incorporação de Sb(III) e PQ sem a aplicação de potencial. Assim, uma variação na quantidade de biochar adicionada na pasta de carbono influencia nesta capacidade de incorporação e consequentemente na resposta do eletrodo.

Sendo assim, um estudo para avaliar a influência da quantidade de biochar na composição da pasta de carbono com base na resposta voltamétrica para a determinação do paraquat foi realizado. Foram estudados eletrodos com a composição que variaram de 10 – 40% (m/m) de biochar na pasta de carbono.

Foram realizadas varreduras de redissolução catódica por SWV, com frequência de 25 Hz, amplitude de pulso de 50 mV e incremento de potencial de 5 mV. As medidas foram realizadas em meio de tampão acetato, com pH= 5 para a solução de leitura e pH = 6 para a solução de pré-concentração, que continha $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat. O tempo de pré-concentração do herbicida foi de 300 segundos e o tempo de incorporação do antimônio foi de 120 segundos (ETAPA 1, FIGURA 16). A resposta para cada eletrodo em função da corrente obtida para a redução do paraquat é apresentada na FIGURA 32.

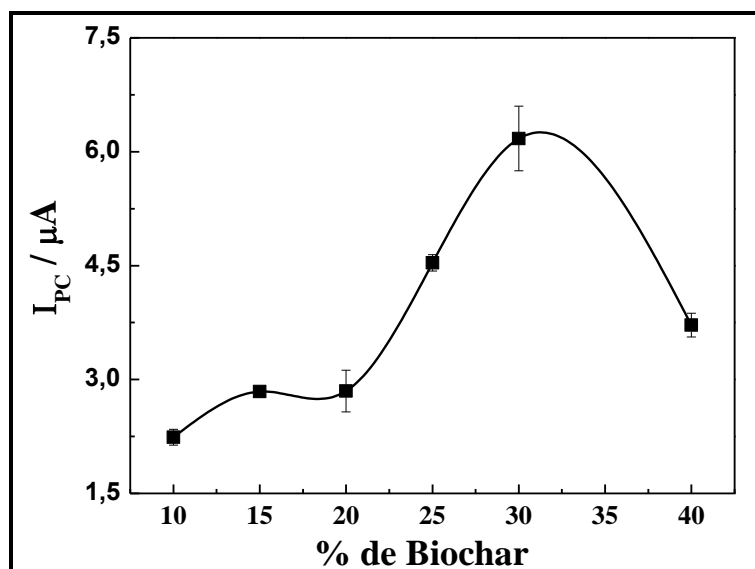


Figura 32. Respostas em função da corrente obtidas para PQ no estudo da quantidade de modificador da pasta de carbono utilizando-se EPCMSb contendo 10, 15, 20, 25, 30 e 40% de biochar, a partir de voltamogramas de onda quadrada. $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $t_{ADS} = 300 \text{ s}$; $f = 25 \text{ Hz}$; $\Delta_{EP} = 50 \text{ mV}$; $\Delta_{ES} = 5 \text{ mV}$.

O biochar utilizado neste trabalho foi produzido por pirólise a 300°C, e segundo relatos da literatura [102;113], nesta temperatura a quantidade de

grupos funcionais é maior e por consequência a capacidade de adsorção/interação do biocarvão com espécies de interesse também. Porém, nesta temperatura, a constituição interna do biochar é majoritariamente de carbono amorfo, material não condutor. Assim, a substituição de parte do grafite (material utilizado como fase condutora na construção de eletrodo de pasta de carbono) por biochar, irá diminuir a condutividade do eletrodo.

Assim sendo, é possível verificar na FIGURA 32, um acréscimo da resposta para PQ com o aumento das porcentagens de biochar na composição da pasta, alcançando o máximo de corrente quando a quantidade de biochar no EPCMSb é de 30%. Essa tendência é atribuída a maior capacidade de adsorver o herbicida em sua superfície, devido ao aumento crescente de sítios disponibilizados com o aumento da porcentagem de biocarvão. Para quantidades acima de 30% o decréscimo da corrente é observado, atribuído à maior resistência elétrica do eletrodo por conta da elevada quantidade de biocarvão (não condutor) em sua composição.

Alguns trabalhos podem ser encontrados na literatura e descrevem a mesma tendência apresentada pelo dispositivo proposto. El Mhammedi [114] descreve que o dispositivo empregado para a determinação de paraquat obteve um máximo de corrente quando a quantidade do modificador, fluoropatita, era de 37%. De maneira semelhante, os trabalhos de Suguihiro e colaboradores [89] e Oliveira e colaboradores [90] apresentaram tal comportamento e alcançaram o máximo de resposta quando utilizado 25% de biochar para a composição da pasta de carbono.

4.5.4 Estudo do tempo de exposição do eletrodo à solução de Sb(III)

A presença de antimônio na superfície do eletrodo afeta diretamente a resposta do dispositivo construído. Esta resposta é dependente da quantidade de Sb(III) que é incorporado na superfície do EPCMSb, e pode ser controlada através do tempo com que o EPCM fica imerso na solução de Sb(III), durante a realização da ETAPA 1, representada na FIGURA 16.

Sendo assim, um estudo foi realizado a fim de verificar a influência desse elemento na resposta voltamétrica do sensor. Para isso, foi variado o tempo de

exposição do eletrodo a solução de antimônio, contendo $8,76 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, para a obtenção do EPCMSb, que é referente a etapa 1 do procedimento ilustrado na FIGURA 16. Para cada eletrodo preparado, com diferentes tempos de incorporação, as etapas de 2 a 5 foram realizadas. As medidas de redissolução catódica por SWV empregaram uma frequência de 25 Hz, amplitude de pulso de 50 mV e incremento de potencial de 5 mV. O eletrólito utilizado foi tampão acetato, com pH ajustado em 5,0 para a solução de leitura e 6,0 para a solução de pré-concentração, que continha $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat. As correntes de pico obtidas para cada um dos eletrodos foram coletadas para posterior comparação e estão representadas na FIGURA 33.

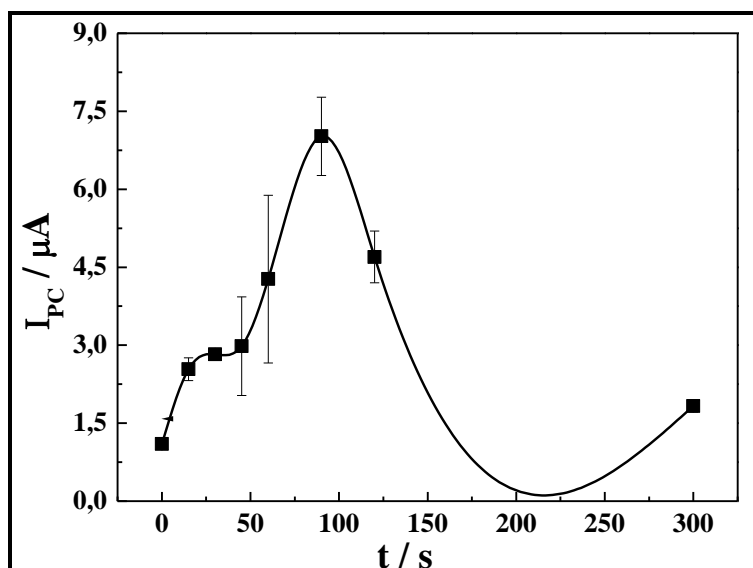


Figura 33. Respostas em função de corrente para PQ no estudo do tempo de exposição ao Sb(III) utilizando-se EPCMSb com diferentes tempos de exposição a uma solução contendo $8,76 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Sb^{3+} , obtidas a partir de voltamogramas de onda quadrada. $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $t_{ADS} = 300 \text{ s}$; $f = 25 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 5 \text{ mV}$.

É possível perceber que há um aumento crescente das correntes de pico para o PQ em relação ao aumento do tempo de exposição do eletrodo à solução dos íons antimônio. Esse aumento alcança um máximo de corrente em um tempo de 90 segundos, valor escolhido como ótimo, e a partir desse período é observado um decréscimo da corrente de resposta para o PQ com o aumento da quantidade de antimônio na superfície do eletrodo.

Conforme descrito por Nigovic e Hocevar [70], a menor presença de antimônio na superfície do eletrodo atribui ao dispositivo uma maior reprodutibilidade do sinal, o que normalmente implica em uma melhor resposta para o analito obtido pelo sensor. Isso porque nem sempre a presença em

grande quantidade do semi-metal na superfície do eletrodo apresenta a melhor resposta para o analito.

Esse comportamento descrito por Nigovic e Hocevar, foi observado para a determinação de pantoprazol utilizando um dispositivo de filme de antimônio, e pode ser visualizado também para o dispositivo proposto pela FIGURA 33.

4.5.5 Estimativa da quantidade de Antimônio na superfície do EPCSb

A quantidade do semi-metal na superfície do eletrodo é estimada a partir da carga elétrica (Q) gerada pela reação de oxidação do $Sb(0)$ em $Sb(III)$. A obtenção da Q é obtida pela integração do pico do processo faradáico descrito anteriormente. Logo, a partir da carga gerada nesse processo e com base na relação de Faraday aplicada ao número de elétrons transferidos na reação, é possível inferir sobre a quantidade de sítios ativos expostos que o material apresenta, bem como especulações sobre a disposição do elemento sobre a superfície do eletrodo, conforme abordado no tópico 4.1.1.

Dessa maneira, experimentos de voltametria linear foram realizados, empregando-se uma velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} . O EPCMSb foi obtido através do procedimento descrito e exemplificado pela FIGURA 16 e utilizado nas voltametrias lineares. O voltamograma linear obtido e utilizado para mensurar a quantidade de antimônio na superfície do eletrodo desenvolvido é apresentado na FIGURA 34.

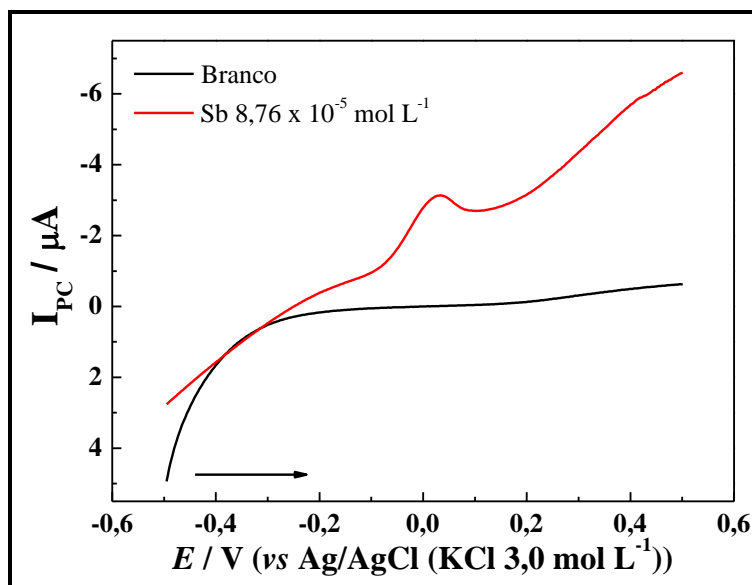


Figura 34. Voltamograma linear obtido para EPCMSb. Velocidade de varredura: 10 mV s⁻¹; eletrólito suporte: tampão acetato pH=5.

A partir da integração do pico faradáico, presente em $E_p = 0,0$ V, obteve-se uma carga de $6,24 \times 10^{-7}$ C, e empregando-se a lei de Faraday (3):

$$\eta_{Sb} = \frac{Q}{nF} \quad (3)$$

Onde o n é o número de mols de elétrons envolvidos na semi-reação do antimônio ($Sb^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons Sb^0$) e F é a constante de Faraday ($F = 96450$ C), e levando em consideração a área geométrica do eletrodo de trabalho como sendo $0,049$ cm², a quantidade de antimônio disponível na superfície do dispositivo construído é de $4,41 \times 10^{-11}$ mol cm⁻².

De acordo com a quantidade de antimônio calculada, chega-se a 0,26 ng de antimônio na superfície do eletrodo, quantidade inferior a reportada por Toghiani [64] e não suficiente para formar um filme do semi-metal na superfície do EPCMSb, concordante com a estrutura morfológica encontrada pelas análises de MEV, apresentadas em 4.4.1.

4.5.6 Estudo do tempo de exposição ao PQ

Outro fator importante durante a etapa de pré-concentração é o tempo necessário para que os íons PQ^{2+} sejam adsorvidos na superfície do eletrodo.

Para isso, o EPCMSb foi exposto à uma solução de tampão acetato, pH=6, com uma concentração de paraquat igual a $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em um intervalo de tempo de 5 a 600 segundos, em circuito aberto, sob agitação constante. Os resultados obtidos, em função de corrente estão representados na FIGURA 35.

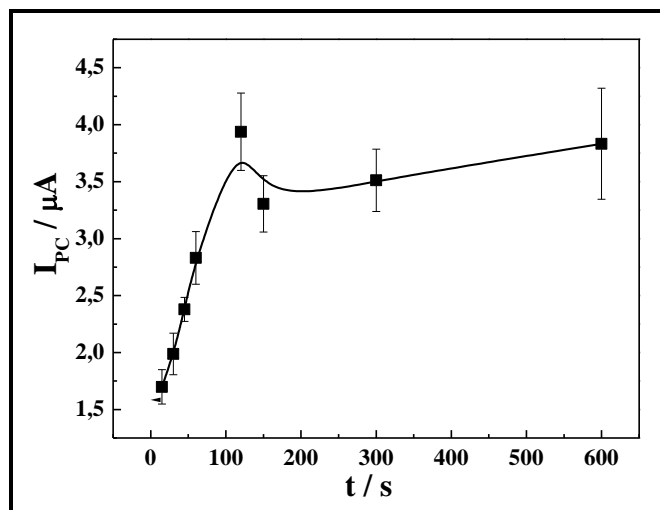


Figura 35. Respostas em função de corrente para PQ para o estudo do tempo de exposição ao paraquat utilizando-se EPCMSb, obtidas a partir de voltamogramas de onda quadrada. $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $f = 25 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 5 \text{ mV}$.

É possível perceber que o equilíbrio entre os íons presentes em solução e os íons acomodados na superfície do eletrodo ocorreu a partir de 120 segundos, valor fixado como ótimo, o que é indicado pela tendência à estabilização nos valores de corrente nos tempos superiores a este.

Tsai e Chen [111] descrevem que a cinética de adsorção de paraquat pelo biochar ocorre inicialmente de maneira rápida, atingindo o máximo de absorção nos primeiros minutos de contato do carvão com o herbicida, atingindo um platô com o aumento do tempo de contato. Esse equilíbrio que é atingido, formando o platô, ocasionado pela formação de uma monocamada do herbicida na superfície do carvão.

Tal comportamento de saturação precoce também foi descrito por El Mhammedi e colaboradores [115] que empregaram um eletrodo de pasta de carbono modificada com argila mineral do tipo Kaolin para a pré-concentração e determinação de paraquat. Os autores descrevem que o tempo de acumulação utilizado é de 300 segundos, e partir desse valor uma variação da corrente de pico pouco pronunciada é observada, atingindo um platô de corrente.

Macias e colaboradores [116] também descreveram a mesma situação de estabilização de corrente para valores de pré-concentração maior de 90 segundos sobre a superfície de um eletrodo gotejante de mercúrio.

Além de El Mhammedi e Macias, esse perfil de platô já foi descrito em outros trabalhos que empregam o bichar como modificador de eletrodos [89-90], indicando que a partir de certo período de tempo os sítios do biochar presentes na superfície do eletrodo estão, quase que sua totalidade, ocupados pelo analito.

4.6 OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS – PARÂMETROS DA TÉCNICA

Com os parâmetros experimentais da metodologia analítica otimizados, foram realizados estudos de otimização dos parâmetros inerentes da técnica de voltametria de onda quadrada, a fim de melhorar ainda mais a resposta do EPCMSb frente ao herbicida PQ, pois a SWV possibilita a varredura completa do potencial em um intervalo de tempo reduzido, análises mais rápidas do que as realizadas por pulso diferencial, por exemplo, além de também minimizar os efeitos da corrente capacitiva.

Assim como a velocidade de varredura está para a voltametria cíclica, a frequência de aplicação dos pulsos está para a SWV, sendo esta a responsável pela magnitude do sinal analítico e consequentemente a sensibilidade do método. Outro parâmetro possível de otimização na técnica SWV é a amplitude do pulso de potencial aplicado. Sua variação influencia diretamente na seletividade do pico, que tende a ficar mais largo para altos valores de amplitude. Nesse contexto, a velocidade de varredura na SWV é resultado do produto entre frequência de aplicação do pulso e o incremento de potencial, que assim como a frequência detém influência com respeito à sensibilidade das análises.

Para todos os estudos o EPCMSb foi exposto a uma solução de PQ, $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, e depois levado a célula eletroquímica e posterior varredura em modo de onda quadrada. Todos os parâmetros otimizados anteriormente foram empregados para esses estudos.

O primeiro parâmetro otimizado foi a frequência. A otimização desse parâmetro é de fundamental importância, pois para a maioria dos processos eletródicos a corrente de pico é diretamente proporcional ao seu valor. Assim,

com a maximização do valor de f , aumenta-se, consequentemente, a sensibilidade do procedimento. [23]

A FIGURA 36 traz os resultados obtidos para o estudo da frequência.

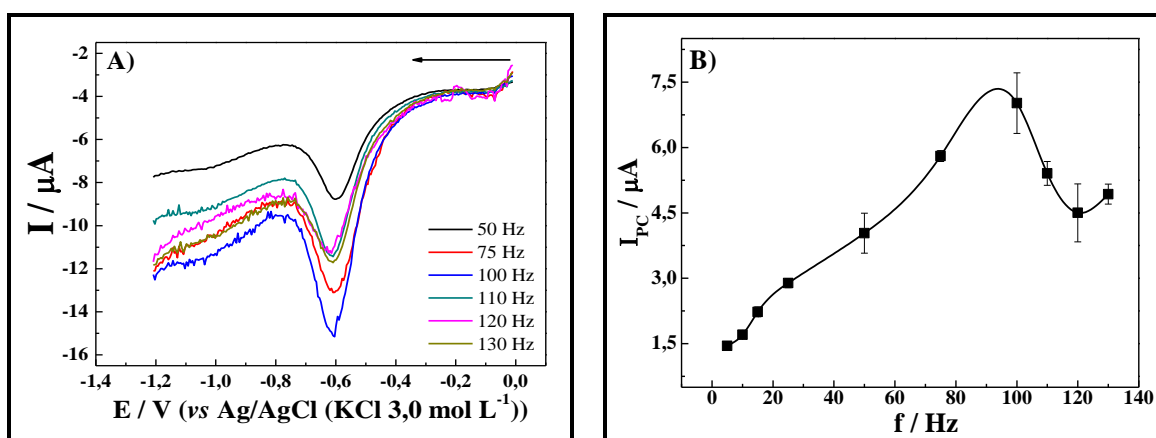


Figura 36. A) Voltamogramas de onda quadrada representativos obtidos para o estudo da frequência e B) Respostas em função de corrente de PQ utilizando-se EPCMSb em função da variação da frequência. $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 5 \text{ mV}$.

É possível observar que com o aumento da frequência há o aumento da corrente de pico referente a redução do PQ, que atinge o seu máximo para o valor de 100 Hz, e a partir de tal frequência há o decréscimo da corrente de pico de resposta do sensor, portanto o valor de 100 Hz foi fixado.

A frequência está diretamente relacionada com a velocidade em que as ondas de pulso são aplicadas e varridas. Dessa maneira, valores elevados de frequência influem em uma elevada velocidade de varredura. Caso a cinética da reação não seja rápida o suficiente para acompanhar a velocidade em que o experimento irá ocorrer, uma perda de sensibilidade pode ocorrer e com isso o decréscimo de corrente pode ser observado. [23]

A amplitude de aplicação dos pulsos de potencial, ΔE_P , também influencia nos valores obtidos para a corrente de pico. A FIGURA 37 traz os resultados obtidos para o estudo desse parâmetro.

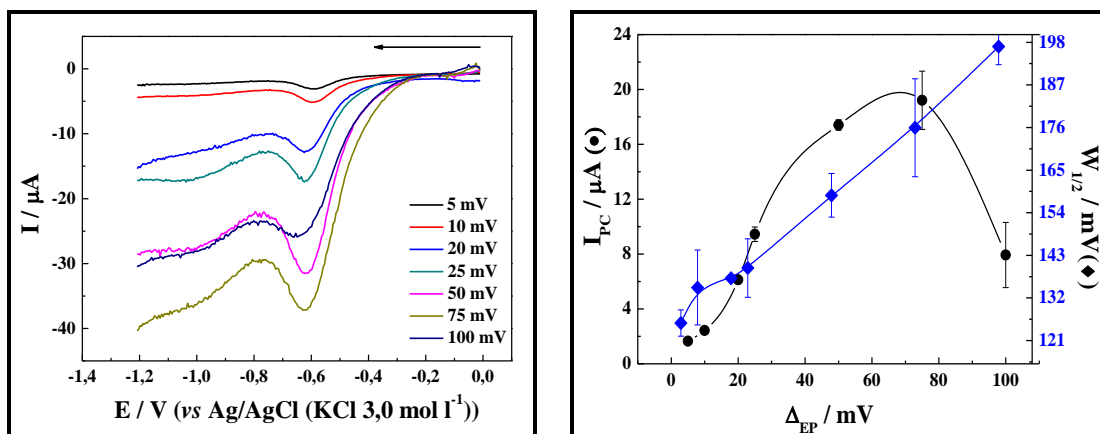


Figura 37. A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para o estudo da amplitude de pulso e B) Respostas em função de corrente (●) e largura de pico à meia altura (◆) de PQ utilizando-se EPCMSb em função da variação da amplitude de pulso. $t_{ADS} = 120s$; $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta_{ES} = 5 \text{ mV}$.

É possível perceber na FIGURA 37B que com o aumento da amplitude de pulso há o aumento da corrente, que atinge seu máximo em 75 mV e depois tende a declinar. Segundo a literatura, para sistemas como o do herbicida em questão, há um aumento proporcional da corrente com a amplitude até 60 mV e a partir desse valor além da variação da corrente, ocorre também o aumento da largura de meia onda dos picos de redução. Esse alargamento não é interessante, pois com ele a definição dos picos se torna menos pronunciado, diminuindo a seletividade do método; sendo assim, o valor de amplitude escolhido foi de 50 mV, que apresentou corrente satisfatória, mantendo a largura de pico estreita resultando em uma melhor definição de pico. [23]

O último parâmetro de técnica otimizado foi o incremento de potencial. Os resultados obtidos estão representados na FIGURA 38.

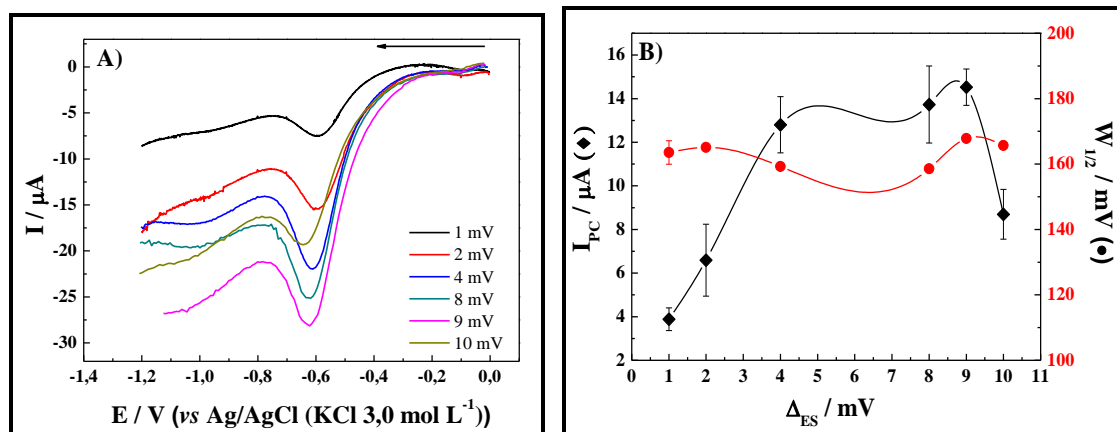


Figura 38. A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para o estudo do incremento de potencial e B) Respostas em função de corrente (\blacklozenge) e largura de pico à meia altura (\bullet) de PQ utilizando-se EPCMSb em função da variação do incremento de potencial. $t_{\text{ADS}} = 120\text{s}$; $C_{\text{PQ}} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$.

A velocidade na SWV é o resultado do produto da frequência pelo incremento de potencial. Deste modo, um incremento de potencial maior pode aumentar o sinal obtido e, assim, melhorar a sensibilidade do método. Porém, incrementos maiores de potencial, podem acarretar um alargamento dos picos, comprometendo novamente a definição dos picos obtidos. [23] Os valores de correntes obtidos para a variação do incremento de potencial são apresentados na FIGURA 38B.

É possível perceber que a corrente aumenta com o aumento do incremento até atingir o valor de 4 mV e, a partir desse valor, há uma perda significativa da definição dos voltamogramas, que não é compensada pela corrente obtida, que parece não atuar de modo significativo na sensibilidade para propósitos analíticos.

4.7 ESTUDO DA REPETIBILIDADE E REPRODUTIBILIDADE

Para avaliar a estabilidade da superfície eletródica e a confiabilidade entre as medidas foi realizado um estudo de repetibilidade e reprodutibilidade das medidas voltamétricas. Tais medidas foram realizadas com o intuito de avaliar a variação de corrente para PQ para medidas consecutivas em uma mesma superfície (repetibilidade) e para medidas sobre diferentes superfícies (reprodutibilidade).

Para o estudo de repetibilidade foi construído um EPCMSb e tal eletrodo foi exposto 10 vezes à solução de PQ, $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, e submetido a varredura de onda quadrada após cada exposição, utilizando-se sempre a mesma superfície. O resultado obtido está apresentado na FIGURA 39.

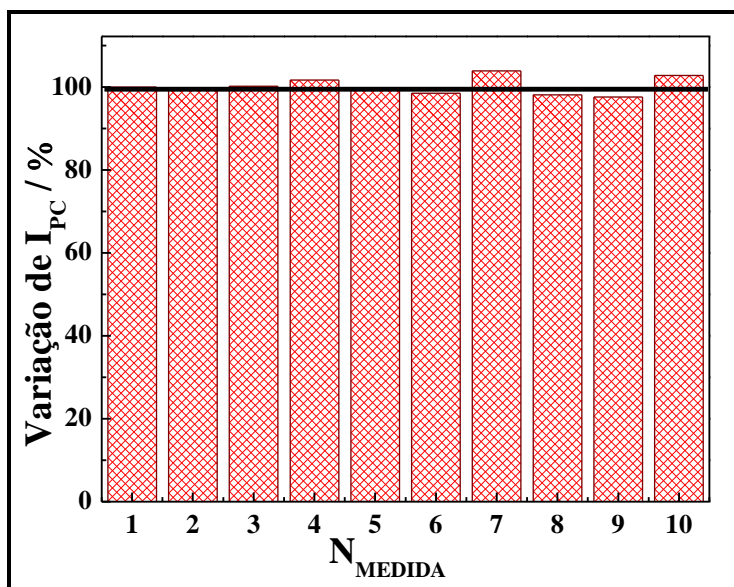


Figura 39. Gráfico de barras em função da porcentagem das correntes obtidas no estudo de repetibilidade. $t_{\text{ADS}} = 120 \text{ s}$; $C_{\text{PQ}} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 4 \text{ mV}$; $n=10$.

Para o estudo de reprodutibilidade foram construídos 10 EPCMSb e cada um desses eletrodos foi exposto uma única vez à solução de PQ, $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, e submetido a varredura de onda quadrada. As correntes obtidas foram coletadas e estão representadas na FIGURA 40 em função de porcentagem.

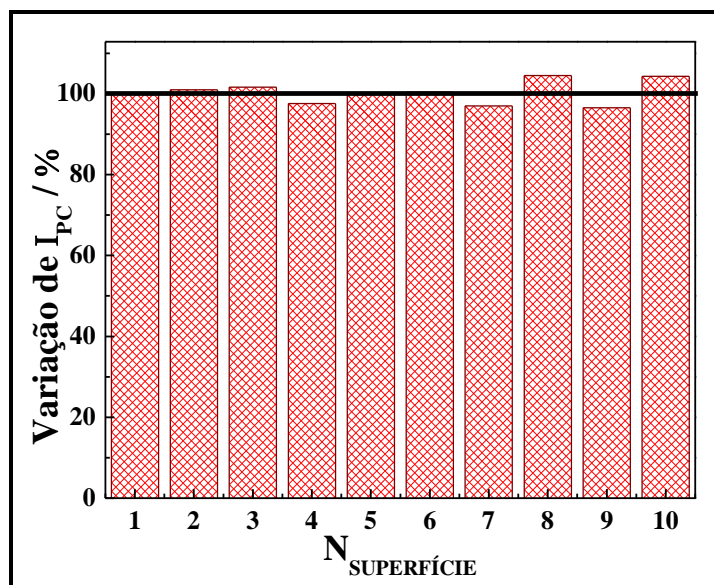


Figura 40. Gráfico de barras em função da porcentagem das correntes obtidas no estudo de reprodutibilidade. $t_{ADS} = 120$ s; $C_{PQ} = 1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹; $f = 100$ Hz; $\Delta_{EP} = 50$ mV; $\Delta_{ES} = 4$ mV; $n = 10$.

Os valores de desvio padrão relativos encontrados entre as medidas, para ambos os estudos foram inferiores a 3,0%, sendo de 2,0 % para o estudo de repetibilidade e de 2,7% para o estudo de reprodutibilidade, quando comparados com a média dos valores de correntes alcançados, o que pode ser atribuído a um bom controle do processo de preparação da pasta de carbono e das modificações com biochar e antimônio, além de elevada robustez tanto do eletrodo como da metodologia desenvolvida, viabilizando assim, as medidas realizadas pelo método proposto.

4.8 CURVA ANALÍTICA

Com todos os parâmetros da metodologia proposta já otimizados (TABELA 7), foi possível construir uma curva de calibração empregando-se o EPCMSb, em relação ao paraquat.

TABELA 7. Parâmetros Otimizados

Parâmetro	Valores Estudados	Valores Otimizados
Eletrólito Suporte	Tampão Acetato e Fosfato	Tampão Acetato
pH Solução de Leitura	2,0 – 7,0	5,0
pH Solução de Pré-Concentração	2,0 – 7,0	6,0
% Modificador	10 – 40 %	30 %
t de exposição ao Sb	0 – 300 s	90 s
t de exposição ao PQ	5 – 600 s	120 s
Frequência	5 a 130 Hz	100 Hz
Amplitude de Pulso	5 a 100 mV	50 mV
Incremento de Potencial	1 a 10 mV	4 mV

Para isso, o eletrodo foi exposto a uma solução de pré-concentração, na qual crescentes e sucessivas adições de paraquat foram realizadas, alcançando uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-7}$ a $4,7 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. A curva obtida está representada na FIGURA 41.

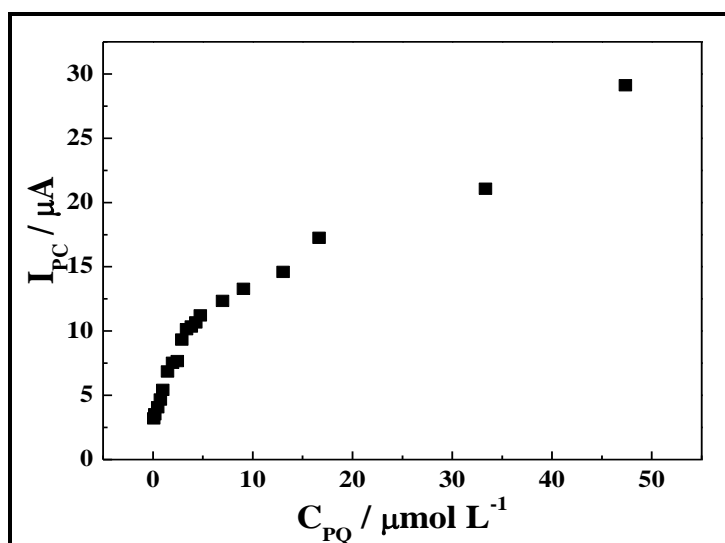


Figura 41. Curva de calibração obtida para PQ, na faixa de $1,0 \times 10^{-7}$ a $4,7 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, empregando-se EPCMSb. $f = 100$ Hz; $\Delta_{EP} = 50$ mV; $\Delta_{ES} = 4$ mV; $t_{ADS} = 120$ s.

A partir dessa curva foi possível determinar qual a região de resposta linear do EPCMSb para a determinação de paraquat, bem como as figuras de mérito.

A FIGURA 41 sugere que existem duas regiões de resposta linear do sensor proposto para o herbicida em questão, porém uma delas com uma

sensibilidade inferior e em concentrações maior do herbicida, superiores aquela permitida pela legislação, não sendo atrativa nem necessária de se utilizar.

Dessa maneira foi considerada apenas a região mais sensível da curva de calibração, representada na FIGURA 42, sendo que a partir dela as figuras de mérito foram calculadas.

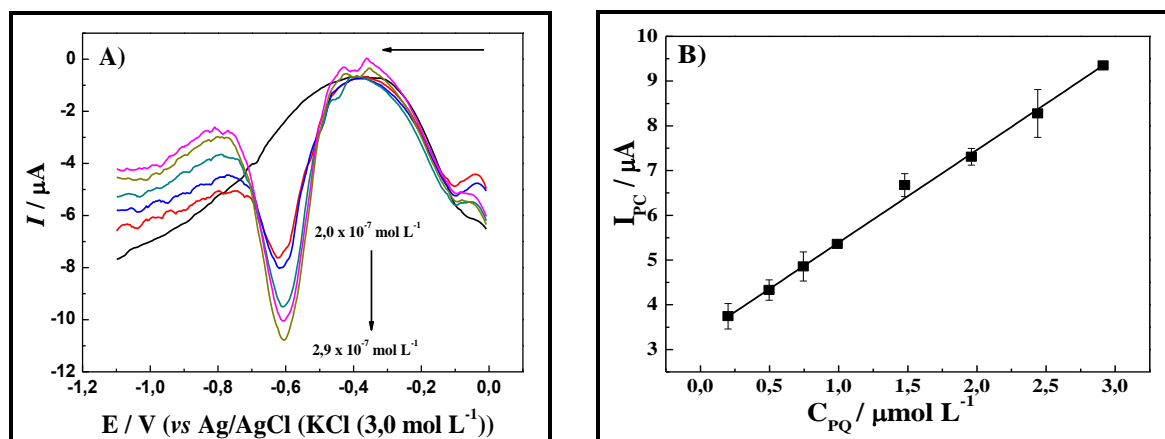


Figura 42. A) Voltamogramas de Onda Quadrada representativos da região linear de resposta. B) Curva analítica obtida a partir de voltamogramas de onda quadrada como os demonstrados em A. $f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 4 \text{ mV}$; $t_{ADS} = 120 \text{ s}$; $n=3$.

É possível perceber que há um aumento linear de resposta de corrente em função do aumento da concentração de paraquat adicionada em uma região de $2,0 \times 10^{-7} - 2,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com uma sensibilidade de $2,07 \text{ A L mol}^{-1}$.

Para os cálculos de limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), foram utilizadas as equações 3 e 4, respectivamente [117]:

$$LD = \frac{3SD}{b} \quad (3)$$

$$LQ = \frac{10SD}{b} \quad (4)$$

Sendo SD o desvio padrão de 5 medidas consecutivas do branco e b o coeficiente angular (inclinação) da curva analítica. A TABELA 8 traz o desempenho analítico obtido com o dispositivo desenvolvido.

TABELA 8. Desempenho Analítico obtido com o EPCMSb para a determinação de PQ.

Região Linear / mol L^{-1}	$2,0 \times 10^{-7} - 2,9 \times 10^{-6}$
R^2	0,999
Sensibilidade / $\text{A mol}^{-1} \text{ L}$	2,07
LD / mol L^{-1}	$3,4 \times 10^{-8}$
LQ / mol L^{-1}	$1,1 \times 10^{-7}$

A fim de comparar entre as técnicas pulsadas, foram otimizados os parâmetros para voltametria pulso diferencial, e uma curva de calibração foi construída na mesma faixa de concentração utilizada para a voltametria de onda quadrada. A FIGURA 43, traz essa comparação.

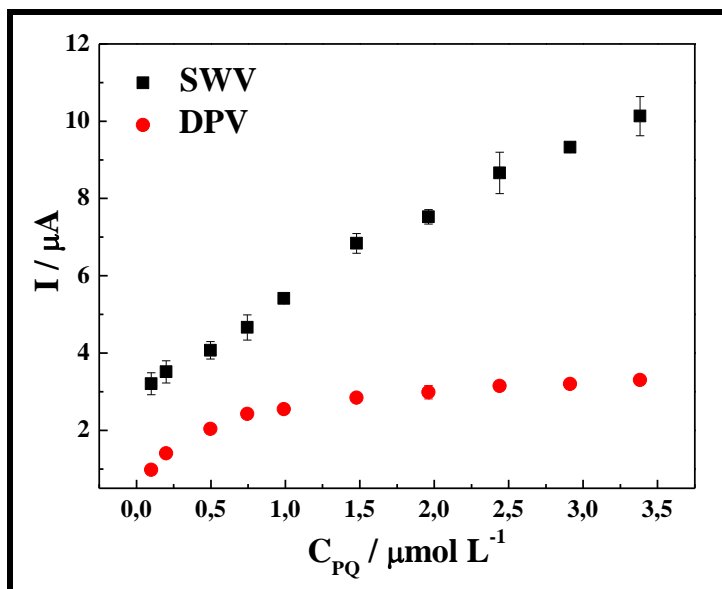


Figura 43. Curvas de Calibração obtidas para SWV ($f = 100 \text{ Hz}$; $\Delta E_P = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 4 \text{ mV}$) e DPV ($\Delta E_P = 75 \text{ mV}$; $\Delta E_S = 7 \text{ mV}$; $t = 25 \text{ ms}$) na faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-8}$ a $3,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat. $t_{\text{ADS}} = 120 \text{ s}$.

É possível perceber que para a mesma faixa de concentração do PQ, a SWV mostrou uma sensibilidade, relacionada a inclinação da reta, superior àquela alcançada pela DPV, o que está de acordo com a literatura. A elevada sensibilidade obtida pela SWV, quando comparada com a DPV deve-se principalmente na forma de perturbação e amostragem da corrente, ou seja, no final do pulso direto e também no final do pulso reverso. [24]

O desempenho analítico obtido com o dispositivo proposto foi comparado com trabalhos encontrados na literatura e estão dispostos na TABELA 9.

TABELA 9. Comparação entre o desempenho analítico obtido com o dispositivo proposto e diferentes dispositivos descritos na literatura para a determinação de Paraquat.

Eletrodo	Técnica	Sensibilidade / A L mol⁻¹	Região Linear / mol L⁻¹	LD / mol L⁻¹	Ref.
EPCMSb	SWV	2,07	$2,0 \times 10^{-7} - 2,9 \times 10^{-6}$	$3,4 \times 10^{-8}$	*
PGE/CoPc	SWV	2,9	$5,0 \times 10^{-7} - 2,9 \times 10^{-5}$	$1,04 \times 10^{-7}$	118
HDME	SWV	0,047	$5,0 \times 10^{-8} - 1,0 \times 10^{-5}$	$1,5 \times 10^{-8}$	119
AuNP/DNA/GE	DPV	0,0069	$5,0 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-3}$	$1,3 \times 10^{-6}$	120
MWNTC-DPH/GCE	SWV	7,44	$5,0 \times 10^{-8} - 1,5 \times 10^{-6}$	$1,0 \times 10^{-8}$	18
BiFE	DPV	0,065	$6.6 \times 10^{-7} - 4,8 \times 10^{-5}$	$9,3 \times 10^{-8}$	19

*Este Trabalho

4.9 DETERMINAÇÃO DE PARAQUAT EM AMOSTRAS REAIS

A exatidão do método proposto foi avaliada por ensaios de adição e recuperação em amostras de água e suco de laranja e limão fortificados com o herbicida. As análises foram realizadas empregando a metodologia representada pela FIGURA 16, sendo que as amostras fortificadas foram empregadas na etapa 3 desse método.

Os valores de recuperação foram calculados a partir da relação demonstrada em (5), utilizando o valor de concentração achado a partir da substituição dos valores de corrente na equação da reta obtida em 4.6, demonstrada em (6), e foram tratados com base em um teste t de Student, demonstrado em (7). [121]

$$\% \text{ Recuperação} = \frac{C_{\text{Recuperada}}}{C_{\text{Adicionada}}} \times 100 \quad (5)$$

$$y = 2,07x + 3,3 \times 10^{-6} \quad (6)$$

$$t = \frac{|\%Rec - 100|}{\frac{s_{c_0}}{\sqrt{n}}} \quad (7)$$

Além disso, foram realizados também um estudo de espécies que podem ocorrer concomitantes com o analito na matriz a ser analisada, e que podem causar interferências no sinal obtido para o analito, pelo dispositivo proposto.

4.9.1 Efeito das espécies interferentes

Para a determinação de paraquat em amostras reais, na maioria das vezes, a matriz da amostra será complexa, possuindo espécies que podem interferir de maneira significativa no sinal do analito. Assim, foi avaliada a interferência de espécies presentes nas amostras de suco nas respostas voltamétricas para PQ obtidas com o EPCMSb. As espécies avaliadas foram escolhidas com base no trabalho desenvolvido por De Souza e colaboradores [122-123], sendo elas ácido ascórbico, citrato de sódio (ácido cítrico) e sacarose, sendo estes os principais constituintes das frutas em questão.

Para avaliar a possível interferência dessas espécies, 3 níveis de concentração dos interferentes foram adicionados na solução de pré-concentração contendo sempre a quantidade fixa de PQ em $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. As concentrações de cada uma dos interferentes bem como os resultados desse estudo estão descritos na TABELA 10. As variações foram calculadas em função da resposta na ausência dos interferentes.

TABELA 10. Resultados obtidos para o Estudo de Interferentes.

	Citrato de Sódio	Ácido Ascórbico	Sacarose
$C_{\text{INT}} / \text{mol L}^{-1}$	Variação de $I_{\text{PC}} / \%$		
$1,0 \times 10^{-5}$	-2,5	0,7	-10,81
$1,0 \times 10^{-6}$	-3,0	-3,5	0,4
$1,0 \times 10^{-7}$	-1,1	-0,4	1,1

É possível perceber que nenhuma das espécies interferem significativamente na resposta do paraquat, principalmente pelo fato de que os processos envolvidos na redução de tais espécies acontecem em potenciais mais negativos. Tal fato foi comprovado por análises prévias realizadas em soluções contendo apenas os interferentes, onde nenhum processo faradáico foi observado no intervalo de potencial do processo de redução do paraquat.

4.9.2 Adição e Recuperação em Amostra de Água de torneira

Tendo em vista que a contaminação por paraquat ocorre principalmente por ambientes aquáticos, foram realizados testes de adição e recuperação em uma amostra de água de torneira do Departamento de Química, da UFPR.

O procedimento envolveu a fortificação da amostra com $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat, com análise empregando a metodologia proposta e otimizada. Foram realizadas recuperação em 4 níveis de concentração, demonstradas na TABELA 11.

TABELA 11. Estudo de Recuperação de PQ em amostra de água.

C_{PQ} Adicionada / mol L⁻¹	C_{PQ} Recuperada / mol L⁻¹	Recuperação / %
$2,50 \times 10^{-7}$	$2,54 \times 10^{-7}$	101,6
$5,00 \times 10^{-7}$	$5,06 \times 10^{-7}$	101,2
$7,50 \times 10^{-7}$	$7,10 \times 10^{-7}$	95,4
$1,00 \times 10^{-6}$	$1,03 \times 10^{-6}$	102,2

Os valores de recuperação para a amostra de água variaram de 95,4 a 102,2%, indicando que não há interferências de matriz significativas para a determinação de paraquat em água empregando o método proposto, para um nível de confiança de 95%.

4.9.3 Adição e Recuperação em Amostras de Suco

No Brasil, o paraquat é um dos herbicidas mais utilizados em culturas de frutas cítricas, como laranja e limão. Devido ao seu uso permitido em tais culturas, a metodologia proposta foi aplicado a fim de avaliar a ocorrência de efeitos de matriz na determinação eletroanalítica de resíduos de paraquat em amostras de sucos de limão e laranja, representadas pela FIGURA 44.



Figura 44. Amostras de sucos empregadas nos ensaios de adição e recuperação.

As amostras de suco foram fortificadas com $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de paraquat, sendo que os valores de recuperação obtidos são demonstrados na TABELA 12. Foram realizadas adições em 4 níveis de concentração, sendo elas: $2,5 \times 10^{-7}$, $5,0 \times 10^{-7}$, $7,5 \times 10^{-7}$ e $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de PQ.

TABELA 12. Estudo de Recuperação de PQ em amostras de suco.

Amostras - Sucos		Recuperação / %			
		Adição 1	Adição 2	Adição 3	Adição 4
Limão	Amostra 1	84,3	131,7	120,3	106,2
	Amostra 2	113,2	120,8	114,4	107,9
Laranja	Amostra 3	85,9	113,6	106,9	112,0
	Amostra 4	80,4	91,5	79,7	65,1

Tendo em vista a complexidade da matriz de suco e que não foi realizada nenhuma etapa de pré-tratamento dessas amostras antes de serem fortificadas, os valores de recuperação obtidos se mostraram bastante satisfatórios, inferindo que os efeitos de matriz existentes não são significativos, para um nível de confiança de 95%.

Para ambas amostras, os valores obtidos para todos os níveis de fortificação enquadraram-se na faixa estabelecida para a análise de agrotóxicos [124-125], e não indicam a presença de efeitos de matriz que sejam significativos.

Outra maneira de se verificar tal fato é através do estudo de regressão linear, no qual é possível de verificar se as recuperações se apresentam distribuídas linearmente com relação aos níveis de fortificação. Nesse estudo o coeficiente de correlação fornece a informação relativa a essa proporcionalidade, sendo que para tal estudo são levados em consideração, além do coeficiente de correlação, o coeficiente angular e linear da reta obtida. [121]

A curva de correlação obtida, entre concentração de PQ recuperada vs concentração de PQ adicionada, está representada pela FIGURA 45. Os valores de coeficiente angular e linear foram tratados de acordo com o teste de hipóteses, sendo que foram estabelecidos os valores de zero e um, para os coeficientes linear (C_0) e angular (C_1), respectivamente. Os valores de t foram calculados de acordo com (8) e (9).

$$t = \frac{|C_0 - 0|}{\frac{s_{C_0}}{\sqrt{n-2}}} \quad (8)$$

$$t = \frac{|C_1 - 1|}{\frac{s_{C_1}}{\sqrt{n-2}}} \quad (9)$$

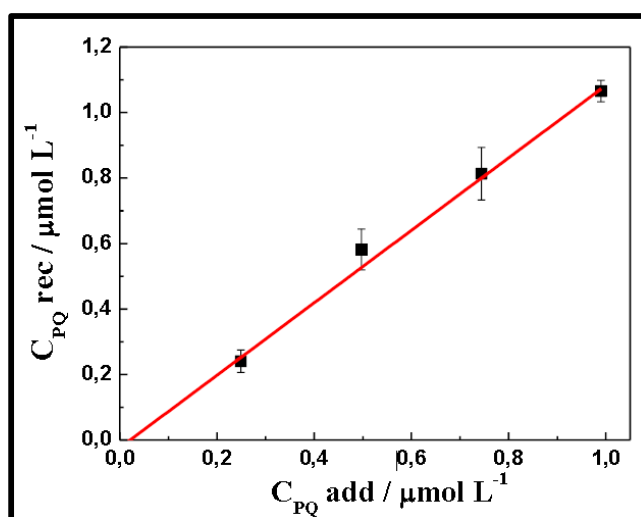


Figura 45. Correlação entre as concentrações de PQ adicionados e as concentrações de PQ recuperadas em relação as respostas de todas as amostras.

Obtendo-se a regressão linear a partir do gráfico da FIGURA 45, tem-se a equação da reta (10):

$$y = -2,4 \times 10^{-8} + 1,06x \quad (10)$$

A partir do coeficiente de correlação obtido, 0,995, pode-se afirmar que há linearidade que relaciona os valores de concentração adicionados e recuperados, assegurando assim o intervalo de trabalho que foi escolhido para tal. A partir dos valores de coeficiente angular e linear, tratados de acordo com (8) e (9), pode-se assegurar que, em um intervalo de confiança de 95%, não existem diferenças significativas entre as hipóteses e os valores obtidos, sugerindo, mais uma vez, que não existem efeitos significativos dos componentes da matriz sobre a resposta do PQ obtida pelo sensor proposto e construído nesse trabalho. [121]

Ainda, fazendo uma analogia e tratando os dados de recuperação (média dos valores obtidos para cada concentração em cada uma das amostras) como se fossem resultados obtidos por um “método A”, e da mesma maneira, fazendo com que os dados de adição (as concentrações adicionadas) representem um “método B”, algumas considerações podem ser inferidas, de maneira semelhante as considerações descritas por Miller e Miller [117] para a comparação entre dois métodos, com base nos valores obtidos de inclinação e intercepto.

Quando uma metodologia é desenvolvida e proposta para a determinação de algum analito, tal método deve ser validado a partir da comparação dos resultados obtidos com resultados obtidos pelo método padrão para a determinação de tal analito. Curvas como as demonstradas pela FIGURA 46 são obtidas para que as comparações possam ser feitas e o método proposto validado.

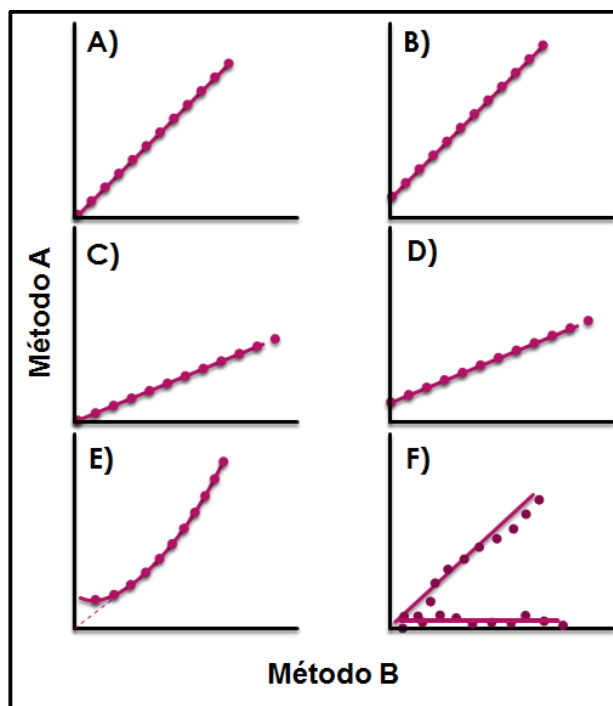


Figura 46. Utilização de Regressão Linear para a comparação entre dois métodos. A) Concordância Ideal entre os dois métodos; B-F) Resultados afetados por diferentes erros sistemáticos. Adaptado de Miller [117].

Os autores [117] descrevem que desvios da situação ideal (FIGURA 46A), ou seja, $a = 0$ e $b = r = 1$, podem ocorrer, ocasionado pela presença de erros sistemáticos durante a execução dos métodos. Pode-se obter um valor de $b = 1$, porém um valor diferente de 0 para a , o que pode ser pelo fato de um método de análise produzir um resultado mais elevado ou mais baixo do que o outro para um dos pontos analisados ou pelo sinal de fundo diferente entre os métodos (FIGURA 46B). Outro desvio da idealidade pode gerar valores de $b \neq 1$, FIGURA 46C, que é acarretado pelo erro sistemático presente em apenas uma das curvas de calibração, de um método ou do outro. Quando os dois erros acontecem em conjunto, FIGURA 46B e 46C, geram o perfil indicado pela FIGURA 46D. Quando o perfil observado é o da FIGURA 46E, outros erros sistemáticos, além dos envolvidos pelo sinal de fundo e pela detectabilidade já descritos, podem estar ocorrendo, e devem ser investigados mais a fundo. E por último, FIGURA 46E, ocorre quando o analito a ser determinado pode apresentar duas formas químicas diferentes, e um dos métodos não é indicado em caso de especiação, podendo detectar apenas uma das duas espécies.

Utilizando-se dessas considerações e empregando-as para a análise da curva de correlação obtida e demonstrada na FIGURA 45, e com base nos

valores de $a = 1,06$ e $b = -2,4 \times 10^{-8}$ apresentados na equação (10), pode-se sugerir que a correlação dos valores é satisfatória, porém com erros sistemáticos atuando sobre os resultados, sem efeitos significativos. Tal erro pode estar associado ao sinal de fundo obtido para as determinações, uma vez que os estudos de construção da curva analítica de adição e recuperação foram realizados em dias distintos.

5 CONCLUSÕES

A construção do EPCMSb se mostrou fácil e rápida, com incorporação do biochar diretamente na pasta, apenas pela homogeneização do carvão com grafite e óleo mineral e posterior compactação da pasta no suporte do eletrodo (tubo de PVC + fio de cobre), seguido da adsorção de Sb^{3+} por 90 segundos.

Como a construção do eletrodo de antimônio é feita *ex situ*, a possibilidade de se trabalhar em meios brandos de análise foi alcançada, não comprometendo a resposta final do eletrodo para o analito em questão.

O método proposto para a determinação de paraquat empregando o EPCMSb e Voltametria de Onda Quadrada caracteriza-se pelo baixo custo e portabilidade, uma vez que as principais etapas são realizadas em circuito aberto e os eletrodos podem ser levados para análises em campo, por exemplo. Além disso, as análises se dão em menos de 5 minutos, incluindo as etapas de incorporação de Sb no biochar e pré concentração do analito, e ainda a varredura de SWV.

O EPCMSb apresentou uma elevada capacidade de pré-concentração de paraquat em sua superfície, devido a adição de biochar, que possui uma densa concentração de grupos funcionais, os quais foram caracterizados pelas análises de FTIR e Titulação de Boehm, de maneira mais eficiente que os outros dispositivos testados, refletidas nas respostas eletroquímicas obtidas.

A resposta eletroquímica do EPCMSb para a determinação voltamétrica de PQ apresentou uma significativa melhora quando comparado ao EPCM e demais eletrodos. Isto se deve pela facilidade de interação e maximização do sinal de redução devido a estruturação morfológica que o antimônio se apresenta na superfície do eletrodo, que pode ser investigada com sucesso empregando-se as análises de MEV e EDS, além do amplo intervalo útil no sentido de potencial negativo alcançado para o eletrodo proposto, uma vez que o sinal de redução do PQ é em potencial negativo, sendo vulnerável de sofrer interferência da formação de hidrogênio quando é empregado outros eletrodos que não possuem tal propriedade.

Sob condições otimizadas, o EPCMSb apresentou uma faixa linear de resposta de $2,0 \times 10^{-7}$ a $2,9 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ após um curto período de pré-

concentração de 120 segundos, com limites de detecção e quantificação calculados em $3,4 \times 10^{-8}$ e $1,1 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹.

Em relação a aplicação para a determinação de paraquat em amostras reais, o método alcançou níveis de recuperação bastante satisfatórios, e com interferências de sinal praticamente desprezível, demonstrando a potencialidade de aplicação de tal metodologia para a determinação de paraquat em diversas amostras e matrizes.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

A partir dos resultados obtidos a partir dos estudos de adição e recuperação, tanto em relação a exatidão bem como em relação a especificidade, pode-se avaliar a aplicação do EPCMSb para a determinação de PQ em outras amostras.

Pode-se avaliar a aplicação do método proposto para a determinação simultânea de paraquat e diquat, uma vez que eles são amplamente empregados em conjunto. Ainda, pode-se avaliar o desenvolvimento de um método empregando o EPCMSb para a determinação de diquat.

Baseando-se nos mecanismos de *stress* oxidativo induzidos pela presença de PQ, há possibilidade de construção de um biossensor, empregando o EPCMSb com o herbicida adsorvido em sua superfície, e a partir disso desenvolver um método analítico para a determinação de espécies de interesse.

Desenvolvimento e aplicação de um método analítico empregando o EPCMSb para a determinação de espécies orgânicas pertencentes a outras classes, como fármacos por exemplo, bem como de espécies inorgânicas, como os metais, explorando a facilidade que o antimônio possui em formar “ligas metálicas” semelhantes aquelas formadas entre o mercúrio e diversos metais, que sejam de interesse da saúde pública.

Em relação ao mecanismo de resposta do EPCMSb, bem como a distribuição e forma do antimônio nesse eletrodo, algumas sugestões foram relatadas nesse trabalho com base nos resultados obtidos por MEV e EDS, porém outras técnicas, como Criomicroscopia Eletrônica de Transmissão, podem ser utilizadas a fim de complementar tais resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. PERES, F.; MOREIRA, J. C. orgs. *É veneno ou é remédio? : agrotóxicos, saúde e ambiente*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2003. 384 p. ISBN 85-7541-031-8.
2. RIBAS, P. P.; MATSUMARA, A. T. S. "A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente" *Revista Liberato*, 10, p.149-158, 2009.
3. BRASIL, Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 12 de julho de 1989.
4. BRASIL, Portaria Normativa IBAMA nº 84, de 15 de julho de 1996. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 de outubro de 1996.
5. LARA, W.; BATISTA, G. "Pesticidas" *Química Nova*, 15, p.161-166, 1990.
6. UNNEVEHR, L. "Changing pesticide policies: Introduction." *Food Policy*, 22, p.105-107, 1997.
7. BALTAZAR, M. T.; DINIS-OLIVEIRA, R. J.; DE LOURDES BASTOS, M.; TSATSAKIS, A. M.; DUARTE, J. A.; CARVALHO, F. "Pesticides exposure as etiological factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases - A mechanistic approach." *Toxicology Letters*, 230, p.85-113, 2014.
8. ELDRIDGE, B. F. *Pesticide Application And Safety Training for Applicators of Public Health Pesticides*. California, 2008.
9. SCHMITT, G. C.; GROTO, D.; VALENTINI, J.; SCHOTT, K. L.; POMBLUM, V. J.; GARCIA, S. C. "Aspectos gerais e diagnóstico clínico laboratorial da intoxicação por paraquat" *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 42, p.235-243, 2006.
10. UMBUZEIRO, G. A. **GUIA DE POTABILIDADE PARA SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS**. São Paulo: Editora Limiar, 2012, 144 p. ISBN 978-85-88075-54-2.
11. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria MS nº 518, de 25 de março de 2004. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2005a. (Série E, Legislação em Saúde).

12. BRASIL, Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº7.802, de 11 de julho de 1989. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 05 de janeiro de 2002.
13. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, s/d. P01 – Paraquate. Brasil. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/7bfd7800474594009b90df3fbc4c6735/P01++Paraquate.pdf?MOD=AJPERES>> - Acesso em 06 de janeiro de 2015.
14. GAOA, L.; LIUA, J.; WANGA, C.; LIUB, G.; NIUA, X.; SHUA, C.; ZHUA, J. “Fast determination of paraquat in plasma and urine samples by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry” *Journal of Chromatography: B*, 944, p.136–140, 2014.
15. ZHANG, W.; SU, Y.; SHI, J.; ZHANG, M.; WU, B.; CHEN, S.; HU, S.; RAO, Z.; ZHENG, J. “Reversed-phase High Performance Liquid Chromatography method for determination of paraquat in whole blood.” *Analytical Methods*, 6, p.6560-6564, 2014.
16. ARAMENDIA, M. A.; BORAU, V.; LAFONT, F.; MARINAS, A.; MARINAS, J. M.; MORENO, J. M.; PORRAS, J. M.; URBANO, F. J. “Determination of diquat and paraquat in olive oil by ion-pair liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry (MRM)” *Food Chemistry*, 97, p.181-188, 2006.
17. HAO, C.; ZHAO, X.; MORSE, D.; YANG, P.; TAGUCHI, P.; MORRA, F. “Optimized liquid chromatography tandem mass spectrometry approach for the determination of diquat and paraquat” *Journal of Chromatography: A*, 1304, p.169-176, 2013.
18. GARCIA, L. L. C.; FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S.; OLIVEIRA, G. G.; FATIBELLO-FILHO, O.; BANKS, C. E. “Square-wave voltammetric determination of paraquat using a glassy carbon electrode modified with multiwalled carbon nanotubes within a dihexadecylhydrogenphosphate (DHP) film” *Sensors and Actuators B: Chemical*, 181, p.306-311, 2013.
19. FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S.; DOS SANTOS, V. B.; JANEGITZ, B. C.; GUERREIRO, BRITO, T.; FATIBELLO-FILHO, O.; FARIA, R. C.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H. “Differential Pulse Voltammetric Determination of Paraquat Using a Bismuth-Film Electrode” *Electroanalysis*, 22, p.1260-1266, 2011.

20. DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S. "Study of the Electrochemical Behavior and Sensitive Detection of Pesticides Using Microelectrodes Allied to Square-Wave Voltammetry" *Electroanalysis*, 18, p.862-872, 2006.
21. WANG, J. **Analytical Electrochemistry**. 3 ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, 2006.
22. HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.
23. DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. "Voltametria de Onda Quadrada. Primeira parte: Aspectos Teóricos" *Química Nova*, 26, p. 81-89, 2003.
24. ALEIXO, L. M. Voltametria: Conceitos e Técnicas. Chemkeys, 2003.
25. FOGG, A. G.; WANG, J. Terminology and convention for electrochemical stripping analysis. *Pure and Applied Chemistry*, 71, p. 891-897, 1999.
26. JANATA, J. **Principles of Chemical Sensors**, Plenum, New York, 2009.
27. STRADIOTTO, N. R.; YAMANAKA, H.; ZANONI, M. V. B. "Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry" *Journal of Brazilian Chemical Society*, 14, p.159-173, 2003.
28. GRÜNDLER, P.; JANATA, J. **Chemical Sensors: An Introduction for Scientists and Engineers**. Springer, 2007, 273 p. ISBN 978-3-540-45742-8.
29. BAGOTSKY, V.S. **Fundamentals of electrochemistry**. 2ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2006.
30. DE SOUZA, D.; MELO, L. C.; CORREIA, A. N.; DE LIMA-NETO, P.; FATIBELLO-FILHO, O.; MASCARO, L. H. "Utilização de eletrodos sólidos de amálgama para a determinação analítica de compostos orgânicos e inorgânicos" *Química Nova*, 34, p.487-496, 2011.
31. ILLUMINATI, S.; ANNIBALDI, A.; TRUZZI, C.; FINALE, C.; SCARPONI, G. "Square-wave anodic-stripping voltammetric determination of Cd, Pb and Cu in wine: Set-up and optimization of sample pre-treatment and instrumental parameters" *Electrochimica Acta*, 104, p.148-161, 2013.

32. AL-GHAMDI, A. F.; KOOLI, F. "A sensitive procedure for the rapid electrochemical determination of Eosin-Y Dye using Voltammetric techniques at a mercury electrode" *Journal of Materials and Environmental Science*, 4, p.762-769, 2013.
33. NAVRÁTIL, T.; ŠVANCARA, I.; MRÁZOVÁ, K.; NOVÁKOVÁ, K. "Mercury and Mercury Electrodes: The Ultimate Battle for the Naked Existence" *Sensing in Electroanalysis*, 6, p.23-54, 2011.
34. BAREK, J.; ZIMA, J. "Eighty Years of Polarography - History and Future" *Electroanalysis*, 15, p.467-472, 2003.
35. ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. "Green Analytical Chemistry" *Electrochimica Acta*, 27, p.497-511, 2008.
36. PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. "Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas." *Química Nova*, 25, p.1012-1021, 2002.
37. SOUZA, M. F. B. "Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem." *Química Nova*, 10, p.191-195, 1997.
38. OLSON, C.; ADAMS, R. N. "Carbon Paste Electrodes Application to Cathodic Reductions and Anodic Stripping Voltammetry" *Analytica Chimica Acta*, 22, p. 582-589, 1960.
39. ŠVANCARA, I.; VYTRRAS, K.; KALCHER, K.; WALCARIUS, A.; WANG, J. "Carbon Paste Electrodes in Facts, Numbers, and Notes: A Review on the Occasion of the 50-Years Jubilee of Carbon Paste in Electrochemistry and Electroanalysis" *Electroanalysis*, 21, p.7-28, 2009.
40. ŠVANCARA, I.; VYTRAS, K.; BAREK, J.; ZIMA, J. "Carbon Paste Electrodes in Modern Electroanalysis" *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31, p.311-345, 2001.
41. WANG, J.; KIRGOZ, U. A.; MO, J.; LU, J.; KAWDE, A. N.; MUCK, A. "Glassy carbon paste electrode." *Electrochemistry Communications*, 3, p.203-208, 2001.

42. DURST, R. A. "Analytical aspects of chemically modified electrodes: Classification, critical evaluation and recommendations." *Pure and Applied Chemistry*, 69, p.1317- 1324, 1997.
43. LEHMANN, J.; JOSEPH, S. **Biochar for environmental management: Science and Technology**. cap 1. Earthscan, London, 2009.
44. XU, G., LV, Y., SUN, J., SHAO, H., WEI, L. "Recent Advances in Biochar Applications in Agricultural Soils: Benefits and Environmental Implications" *Clean – Soil, Air, Water*, 40, p.1093–1098, 2012.
45. WANG, J.; LU, J.; HOCEVAR, S. B.; FARIAS, P. A. M. "Bismuth-coated carbon electrodes for anodic stripping voltammetry." *Analytical Chemistry*, 72, p. 3218-3222, 2000.
46. ECONOMOU, A. "Bismuth-film electrodes: recent developments and potentialities for electroanalysis." *Trends in Analytical Chemistry*, 24, p. 334-340, 2005.
47. DU, D.; YE, X.; ZHANG, J.; LIU, D. "Cathodic electrochemical analysis of methyl parathion at bismuth-film-modified glassy carbon electrode." *Electrochimica Acta*, 53, p.4478-4484, 2008.
48. CAMPESTRINI, I.; BRAGA, O. C.; VIEIRA, I. C.; SPINELLI, A. "Application of bismuth-film electrode for cathodic electroanalytical determination of sulfadiazine." *Electrochimica Acta*, 55, p.4970-4975, 2010.
49. CATARINO, R. I. L.; LEAL, M. F. C.; PIMENTA, A. M.; SOUTO, M. R. S.; LOPES, J. R. T. "Cathodic voltammetric detection of diltiazem at a bismuth film electrode: Application to human urine an pharmaceuticals." *Journal of Brazilian Chemical Society*, 25, p.961-968, 2014.
50. SOSA, V.; SERRANO, N.; ARIÑO, C.; DÍAZ-CRUZ, J. M.; ESTEBAN, M. "Sputtered bismuth screen-printed electrode: A promising alternative to other bismuth modifications in the voltammetric determination of Cd (II) and Pb(II) ions in groundwater." *Talanta*, 119, p.348-352, 2014.
51. PINTO, L.; LEMOS, S. G. "Multivariate optimization of the voltammetric determination of Cd, Cu, Pb and Zn at bismuth film. Application to analysis of biodiesel." *Microchemical Journal*, 110, p.417-424, 2013.

52. YANG, D.; WANG, L.; CHEN, Z.; MEGHARAJ, M.; NAIDU, R. "Anodic stripping voltammetric determination of traces of Pb(II) and Cd(II) using a glassy carbon electrode modified with bismuth nanoparticles" *Microchimica Acta*, 181, p. 1199-1206, 2014.
53. MORALES, M.G.; MARIN, M. R. P.; BLAZQUEZ, L. C.; GIL, E. P. "Applicability of the bismuth bulk rotating disk electrode for heavy metal monitoring in undisturbed environmental and biological samples: determination of Zn (II) in rainwater, tap water and urine." *Analytical Methods*, 6, p. 8668-8674, 2014.
54. PING, J.; WANG, Y.; WU, J.; YING, Y. "Development of an electrochemically reduced graphene oxide modified disposable bismuth film electrode and its application for stripping analysis of heavy metals in milk." *Food Chemistry*, 151, p. 65-71, 2014.
55. BIA, G.; BONRGNINO, L.; ORTIZ, P. I.; PFAFFEN, V. "Multivariate optimization of square wave voltammetry using bismuth film electrode to determine atrazine." *Sensors and Actuators B: Chemical*, 203, p. 396-405, 2014.
56. HANNA, S.; HOCEVAR, S. B.; PIHLAR, B.; OGOREVC, B. "Bismuth film electrode for stripping voltammetric measurement of sildenafil citrate." *Electrochimica Acta*, 60, p.274-277, 2012.
57. HOCEVAR, S. B.; SVANCARA, I.; OGOREVC, B.; VYTRAS, K. "Antimony film electrode for electrochemical stripping analysis." *Analytical Chemistry*, 79, p.8639-8643, 2007.
58. BROWN, D. H.; GOULD, C. T.; TATEVOSSIAN, A. "A robust pH electrode system for student use." *Archives of Oral Biology*, 19, p.601-603, 1974.
59. ALEXANDER, P. W.; JOSEPH, J. P. "A Coated-Metal Enzyme Electrode For Urea Determinations" *Analytica Chimica Acta*, 131, p.103-109, 1981.
60. KOKKINOS, C.; ECONOMOU, A. "Disposable microfabricated 3-electrode electrochemical devices with integrated antimony working electrode for stripping voltammetric determination of selected trace metals" *Sensors and Actuators B: Chemical*, 192, p.572-577, 2014.

61. TESAROVA, E.; BALDRIANOVA, L.; STOCES, I.; SVANCARA, I.; VYTRAS, K.; HOCEVAR, S. B.; OGOREVC, B. "Antimony powder-modified carbon paste electrodes for electrochemical stripping determination of trace heavy metals" *Electrochimica Acta*, 56, p.6673– 6677, 2011.
62. MACZUGA, M.; ECONOMOU, A.; BOBROWSKI, A.; PRODROMIDIS, M. I. "Novel screen-printed antimony and tin voltammetric sensors for anodic stripping detection for Pb (II) and Cd (II)" *Electrochimica Acta*, 114, p.758-765, 2013.
63. ASHRAFI, A. M.; CEROVAC, S.; MUDRIC, S.; GUZSVANY, V.; HUSAKOVA, L.; URVANOVA, I.; VYTRAS, K. "Antimony nanoparticle-multiwalled carbon nanotubes composite immobilized at carbon paste electrode for determination of trace heavy metals." *Sensors and Actuators B: Chemical*, 191, p.320-325, 2014.
64. TOGHILL, K. E.; XIAO, L.; WILDGOOSE, G. G.; COMPTON, R. G. "Electroanalytical determination of Cadmium (II) and Lead (II) using an antimony nanoparticle modified boron-doped diamond electrode." *Electroanalysis*, 21, p.1113-1118, 2009.
65. KOKKINOS, C.; ECONOMOU, A.; RAPTIS, I.; SPELIOTIS, T. "Novel disposable microfabricated antimony-film electrodes for adsorptive stripping analysis of trace Ni (II)." *Electrochemistry Communications*, 11, p.250-253, 2009.
66. DAL BORGIO, S.; JOVANOVSKEI, V.; HOCEVAR, S. B. "Antimony film electrode for stripping voltammetric measurement of Hg (II) in the presence of Cu (II)." *Electrochimica Acta*, 88, p.713-717, 2013.
67. ASHRAFI, A. M.; VYTRAS, K. "New procedures for voltammetric determination of copper (II) using antimony film-coated carbon paste electrode." *Electrochimica Acta*, 73, p.112-117, 2012.
68. ASHRAFI, A. M.; VYTRAS, K. "Determination of trace bismuth (II) by stripping voltammetry at antimony-coated carbon paste electrode." *International Journal of Electrochemical Science*, 7, p.68-76, 2012.
69. NIGOVIC, B.; HOCEVAR, S. B. "Antimony film electrode for direct cathodic measurement of sulfasalazine." *Electrochimica Acta*, 58, p.523-527, 2011.

70. NIGOVIC, B.; HOCEVAR, S. B. "Square-wave voltammetric determination of pantoprazole using ex situ plated antimony-film electrode." *Electrochimica Acta*, 109, p.818-822, 2013.
71. MORAES, F. C.; CESARINO, I.; CESARINO, V.; MASCARO, L. H.; MACHADO, S. A. S. "Carbon nanotubes modified with antimony nanoparticles: A novel material for electrochemical sensing." *Electrochimica Acta*, 85, p.560-565, 2012.
72. CESARINO, I.; CESARINO, V.; LANZA, M. R. V. "Carbon nanotubes modified with antimony nanoparticles in a paraffin composite electrode: Simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim." *Sensors and Actuators B: Chemical*, 188, p.1293-1299, 2013.
73. SLAVEC, M.; HOCEVAR, S. B.; BALDRIANOVA, L.; TESAROVA, E.; SVANCARA, I.; OGOREVC, B.; VYTRAS, K. "Antimony film microelectrode for anodic stripping measurement of cadmium (II), lead (II) and cooper (II)." *Electroanalysis*, 22, p.1617-1622, 2010.
74. ARANCIBIA, V.; NAGLES, E.; ROJAS, C.; GOMEZ, M. "Ex situ prepared nafion-coated antimony film electrode for adsorptive stripping voltammetry of model metal ions in the presence of pyrogallol red." *Sensors and Actuators B: Chemical*, 182, p.368-373, 2013.
75. BOBROWSKI, A.; PUTEK, M.; ZAREBSKI, J. "Antimony film electrode prepared in situ in hydrogen potassium tartrate in anodic stripping voltammetric trace detection of Cd (II), Pb (II), Zn (II), Tl (II), In (III) and Cu (II)." *Electroanalysis*, 24, p.1071-1078, 2012.
76. YI, W. J.; LI, Y.; RAN, G.; LUO, H. Q.; LI, N. B. "A glassy carbon electrode modified with antimony and poly(p-aminobenzene sulfonic acid) for sensing lead (II) by square wave anodic stripping voltammetry." *Microchimica Acta*, 179, p.171-177, 2012.
77. ASHRAFI, A. M.; VYTRAS, K. "Codeposited Antimony-Bismuth film carbon paste electrodes for electrochemical stripping determination of trace heavy metals." *International Journal of Electrochemical Science*, 8, p.2095-2103, 2013.
78. TESAROVA, E.; BALDRIANOVA, L.; HOCEVAR, S. B.; SVANCARA, I.; VYTRAS, K.; OGOREVC, B. "Anodic stripping voltammetric measurement of

trace heavy metals at antimony film carbon paste electrode." *Electrochimica Acta*, 54, p.1506-1510, 2009.

79. SOPHA, H.; JOVANOVSKI, V.; HOCEVAR, S. B.; OGOREVC, B. "In-situ plated antimony film electrode for adsorptive cathodic stripping voltammetric measurement of trace nickel." *Electrochemical Communications*, 20, p.23-25, 2012.

80. STOCES, M.; HOCEVAR, S. B.; SVANCARA, I. "Antimony trifluoride-modified carbon paste electrode for electrochemical stripping analysis of selected heavy metals." *Sensing in Electroanalysis*, 6, p.205-218, 2011.

81. AHMAD, M.; RAJAPAKSHA, A. U.; LIM, J. E.; ZHANG, M.; BOLAN, N.; MOHAN, D.; VITHANAGE, M.; LEE, S. S.; OK, Y. S. "Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: a review." *Chemosphere*, 99, p.19-33, 2014.

82. YANG, K.; ZHU, L.; XING, B. "Adsorption of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Carbon Nanomaterials." *Environmental Science and Technology*, 40, p.1855-1861, 2006.

83. ZABIHI, M.; AHMADPOUR, A.; ASL, A. H. "Removal of mercury from water by carbonaceous sorbents derived from walnut shell." *Journal of Hazardous Materials*, 167, p.230-236, 2009.

84. BELESS, B.; RIFAI, H. S.; RODRIGUES, D. "Efficacy of carbonaceous materials for sorbing polychlorinated biphenyls from aqueous solution." *Environmental Science and Technology*, 48, p.10372-10379, 2014.

85. HAYASHI, J.; KAZEHAHA, A.; MUROYAMA, K.; WATKINSON, A. P. "Preparation of activated carbon from lignin by chemical activation." *Carbon*, 28, p.1873-1878, 2000.

86. ZHOU, M.; LEI, L. "The role of activated carbon on the removal of p-nitrophenol in an integrated three-phase electrochemical reactor." *Chemosphere*, 65, p.1197-1203, 2006.

87. BEESLEY, L.; MORENO-JIMÉNEZ E.; GOMEZ-EYLES, J. L.; HARRIS, E.; ROBINSON, B.; SIZMUR, T. "A review of biochars' potential role in the

remediation, revegetation and restoration of contaminated soils." *Environmental Pollution*, 159, p.3269-3282, 2011.

88. ZHANG, X.; WANG, H.; HE, L.; LU, K.; SARMAH, A.; LI, J.; BOLAN, N. S.; PEI, J.; HUANG, H. "Using biochar for remediation of soils contaminated with heavy metals and organic pollutants." *Environmental science and pollution research international*, 20, p.8472-8483, 2013.

89. SUGUIHIRO, T. M.; OLIVEIRA, P. R.; REZENDE, E. I. P.; MANGRICH, A. S.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; BERGAMINI, M. F. "An electroanalytical approach for evaluation of biochar adsorption characteristics and its application for Lead and Cadmium determination" *Bioresource Technology*, 143, p.40-45, 2013.

90. OLIVEIRA, P. R.; LAMY-MENDES, A. C.; REZENDE, E. I. P.; MANGRICH, A. S.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; BERGAMINI, M. F. "Electrochemical determination of copper ions in spirit drinks using carbon paste electrode modified with biochar" *Food Chemistry*, 171, p.426-431, 2014.

91. OLIVEIRA, P. R.; LAMY-MENDES, A. C.; GOGOLA, J. L.; MANGRICH, A. S.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; BERGAMINI, M. F. "Mercury nanodroplets supported at biochar for electrochemical determination of zinc ions using a carbon paste electrode." *Electrochimica Acta*, 151, p.525-530, 2015.

92. DECHENE, A.; ROSENDAHL, I.; LAABS, V.; AMELUNG, W. "Sorption of polar herbicides and herbicides metabolites by biochar-amended soil." *Chemosphere*, 109, p.180-186, 2014.

93. XU, R.; XIAO, S.; YUAN, J.; ZHAO, A. "Adsorption of methyl violet from aqueous solutions by the biochar derived from crop residues." *Bioresource Technology*, 102, p.10293-10298, 2011.

94. BRENNAN, A.; JIMÉNEZ, E. M.; ALBUQUERQUE, J. A.; KNAPP, C. W.; SWITZER, C. "Effects of biochar and activated carbon amendment on maize growth and the uptake and measured availability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and potentially toxic elements (PTEs)." *Environmental Pollution*, 193, p.79-87, 2014.

95. ASHRAFI, A. M.; VYTRÁS, K. "Stripping voltammetric determination of mercury (II) at antimony-coated carbon paste electrode" *Talanta*, 85, p.2700-2702, 2011.

96. SUN, H.; HOCKADAY, W. C.; MASIELLO, C.; ZYGOURAKIS, K. "Multiple Controls on the Chemical and Physical Structure of Biochars" *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 51, p.3587-3597, 2012.
97. OLESZCZUK, P.; JÓSKO, I.; FUTA, B.; PASIECZNA-PATKOWSKA, S.; PALYS, E.; KRASKA, P. "Effect of pesticides on microorganisms, enzymatic activity and plant in biochar-amended soil." *Geoderma*, 214, p.10-18, 2014.
98. CANTRELL, K. B.; HUNT, P. G.; UCHIMIYA, M.; NOVAK, J. M.; RO, K. S. "Impact of pyrolysis temperature and manure source on physicochemical characteristics of biochar." *Bioresource Technology*, v. 107, p.419-428, 2012.
99. VERGNOUX, A.; GUILIANO, M.; Di ROCCO, R.; DOMEIZEL, M.; THÉRAULAZ, F.; DOUMENQ, P. "Quantitative and mid-infrared changes of humic substances from burned soils." *Environmental Research*, v. 111, p.205-214, 2011.
100. WU, W.; YANG, M.; FENG, Q.; MCGROUTHER, K.; WANG, H.; LU, H.; CHEN, Y. "Chemical characterization of rice straw-derived biochar for soil amendment." *Biomass and Bioenergy*, v. 47, p.268-276, 2012.
101. ZUKAL, A.; AREAN, C. O.; DELGADO, M. R.; NACHTIGALL, P.; PULIDO, A.; MAYEROVÁ, J.; CEJKA, J. "Combined volumetric, infrared spectroscopic and theoretical investigation of CO₂ adsorption on Na-A zeolite." *Microporous and Mesoporous Materials*, v. 146, p.97-105, 2011.
102. KIM, K. H.; KIM, J. Y.; CHO, T. S.; CHOI, J. W. "Influence of pyrolysis temperature on physicochemical properties of biochar obtained from the fast pyrolysis of pitch pine (*Pinus rigida*)." *Bioresource Technology*, v. 118, p.158-162, 2012.
103. GOERTZEN, S. L.; THÉRIAULT, K. D.; OICKLE, A. M.; TARASUK, A. C.; ANDREAS, H. A. "Standardization of the Boehm titration. Part I. CO₂ expulsion and endpoint determination." *Carbon*, 48, p.1252-1261, 2010.
104. NOVAK, J. M.; LIMA, I.; XING, B.; GASKIN, J. W.; STEINER, C.; DAS, K.C.; AHMEDNA, M.; REHRAH, D.; WATTS, D. W.; BUSSCHER, W. J.; SCHOMBERG, H. "Characterization of Designer Biochar Produced at different temperatures and their effects on a loamy sand." *Annals of Environmental Science*, 3, p.195-206, 2009.

105. AL-WABEL, M. I.; AL-OMRAN, A., EL-NAGGAR, A. H.; NADEEM, M.; USMAN, A. R. A. "Pyrolysis temperature induced changes in characteristics and chemical composition of biochar produced from conocarpus wastes." *Bioresource Technology*, 131, p.374-379, 2013.
106. VONDRAK, J.; BALEJ, J. "Influence of mercury on hydrogen overvoltage on solid metal electrodes - I. Stationary polarization curves of hydrogen deposition on pure and poisoned electrodes." *Electrochimica Acta*, 15, p.1653-1665, 1970.
107. JOVANOVSKI, V.; HOCEVAR, S. B.; OGOREVC, B. "Ex Situ Prepared Antimony Film Electrode for Electrochemical Stripping Measurement of Heavy Metal Ions." *Electroanalysis*, 21, p.2321-2324, 2009.
108. HEYROVSKY, M. "Electroreduction of Methyl Viologen" *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 20, p.1856-1857, 1987.
109. BIRD, B.; KUHN, A. "Electrochemistry of the Viologens" *Chemical Society Review*, 10, p.49-82, 1981.
110. BARTON, S. S.; EVANS, M. J. B.; HALLIOP, E.; MACDONALD, J. A. F. "Acidic and basic sites on the surface of porous carbon." *Carbon*, 35, p.1361-1366, 1997.
111. TSAI, W.; CHEN, H. "Adsorption kinetics of herbicide paraquat in aqueous solution onto a low-cost adsorbent, swine-manure-derived biochar" *International Journal of Environmental Science and Technology*, 10, p.1349-1356, 2013.
112. NURCHI, V. M.; VILLAESCUSA, I. "The Chemistry behind the Use of Agricultural Biomass as Sorbent for Toxic Metal Ions: pH Influence, Binding Groups and Complexation Equilibria" *Intech*, p.409-424, 2011.
113. TANG, J.; ZHU, W.; KOOKANA, R.; KATAYAMA, A. "Characteristics of biochar and its application in remediation of contaminated soil" *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 116, p.653-659, 2013.
114. MHAMMEDI, M. A.; BAKASSE, M.; BACHIRAT, R.; CHTAINI, A. "Square wave voltammetry for analytical determination of paraquat at carbon paste electrode modified with fluoroapatite." *Food Chemistry*, 110, p.1001-1006, 2008.

115. MHAMMEDI, M. A.; BAKASSE, M.; BACHIRAT, R.; CHTAINI, A. "Accumulation and trace measurement of paraquat at kaolin-modified carbon paste electrode." *Materials Science and Engineering: C*, 30, p.833-838, 2010.
116. MACIAS, J. M. P.; HERNÁNDEZ, L. H.; SOBRINO, J. M. M.; ESCRIBANO, M. T. S. "Determination of Paraquat by Cathodic Stripping Voltammetry after Accumulation Through the Formation of an Ion Pair on a Hanging Mercury Drop Electrode." *Electroanalysis*, 5, p.79-81, 1997.
117. J. N. MILLER; J. C. MILLER, **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. 6 ed. Pearson. 2010.
118. LOPES, I. C.; DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; TANAKA, A. A. "Voltammetric detection of paraquat pesticide on a phthalocyanine-based pyrolytic graphite electrode." *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388, p.1907-1914, 2007.
119. WALCARIUS, A.; LAMBERTS, L. "Square wave voltammetric determination of paraquat and diquat in aqueous solution." *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 406, p.59-68, 1996.
120. RIBEIRO, J. A.; CARREIRA, C. A.; LEE, H. J.; SILVA, F.; MARTINS, A.; PEREIRA, C. M. "Voltammetric determination of paraquat at DNA-gold nanoparticle composite electrodes." *Electrochimica Acta*, 55, p.7892-7896, 2010.
121. AMARANTE-JR, O. P.; CALDAS, E. P. A.; BRITO, N. M.; DOS SANTOS, T. C. R.; VALE, M. L. B. F. "Validação de Métodos Analíticos: Uma breve abordagem." *Caderno de Pesquisa*, São Luiz, 12, p.116-131, 2011.
122. DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; PIRES, R. C. "Multiple square wave voltammetry for analytical determination of paraquat in natural water, food, and beverages using microelectrodes." *Talanta*, 69, p.1200-1207, 2006.
123. DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S. "Electrochemical detection of the herbicide paraquat in natural water and citric fruit juices using microelectrodes." *Analytica Chimica Acta*, 546, p.85-91, 2005.
124. LEITE, F. **Validação em Análise Química**. 3 ed. Editora Átomo. Campinas 1998.

125. GUSTAVO-GONZÁLEZ, A.; ANGELES-HERRADOR, M.; ASUERO, A. G.
“Intra-laboratory testing of method accuracy from recovery assays.” *Talanta*,
Amsterdã, 48, 729-736, 1999.